

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO**



**MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**RAMO TECNOLOGIAS DE PROTECÇÃO AMBIENTAL**

# **REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES**

**Marcos André Matos Dias dos Santos**  
**Outubro de 2010**



**POLITÉCNICO  
DO PORTO**

# **REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES**

**Orientador:** Professor Doutor Jorge Manuel Pinto de Jesus Garrido

**Co-orientadores:** Professora Doutora Ermelinda Manuela Pinto de  
Jesus Garrido

Professor Doutor Paulo Alexandre Pereira da Silva



**POLITÉCNICO  
DO PORTO**

## **AGRADECIMENTOS**

**“De viagem aqui vou eu  
Na bagagem sonhos meus  
Um bilhete de partida  
Em busca de uma nova vida”**

E é no final da viagem que olhamos para trás e nos apercebemos de tudo o que vivemos, com quem nos cruzamos nas carruagens e em que apeadeiros paramos. E é no final, quando pousamos o pé no chão que nos sentimos mais ricos interiormente.

**“E é um modo de vida  
Que nos faz acreditar  
Que é possível os nossos perigos  
Conseguir ultrapassar  
E para isso basta alegria  
E sonhar cada vez com mais ousadia”**

E agradeço ao meu orientador, Professor Jorge Garrido, por isso mesmo. Por ver sempre os desafios com optimismo e espírito jovial, de sorriso no rosto e sempre disposto a ajudar. Obrigado pelo alento e pelo exemplo. Muito aprendi.

**“Vamos nesta viagem pró que der e vier  
Seja bem-me-quer ou mal-me-quer”**

E “viajei” inúmeras vezes com a minha co-orientadora e não é que todas elas foram “bem-me-quer”?! Um obrigado profundo por toda a ajuda, apoio, entrega desmedida, admiração crescente da minha parte, por toda a cumplicidade construída a cada dia destes longos meses. Agradeço aos dois, desde já, por todas as vezes que parei para pensar na sorte que tive ao ter-vos como meus líderes.

**“Estendes-me a mão  
E o teu coração  
Partilhamos as dores  
E doces sabores  
Caminhamos lado a lado  
Sorriso estampado  
Sei que posso contar contigo  
Em todo o caso”**

E por todas as mãos que me estenderam, e todos os bons e menos bons momentos partilhados, por saber que olhava para vocês e podia contar convosco assim como ao contrário, por toda a entejuda que se fez sentir desde o primeiro dia até ao último, o meu muito obrigado e o meu sorriso já tão vosso conhecido a ti Marta e a ti Sónia. A ti Filipe, pelos mesmos motivos e por ter tido a oportunidade de trabalhar directamente contigo que tão contente me deixou. Não me esqueci do jantar aos três. E ao divertido Abdel por todas as risadas espontâneas comuns, pelas conversas e gostos idênticos.

A todos aqueles que ao longo deste tempo prontamente me ajudaram sem hesitação alguma, me solucionaram alguns problemas perdendo do seu próprio tempo e obrigações para me auxiliar e me disponibilizaram material sem qualquer entrave e com a maior confiança. Ao professor Paulo pela constante atitude incansável de prestar auxílio sempre que necessário e pelo seu espírito crítico um forte obrigado. Um obrigado sincero à Professora Marília, pela disponibilidade, à Professora Paula, de quem nutro admiração, ao Professor Eduardo e Professora Manuela pela boa empatia inegável, à Dra. Fernanda pelo empenho e papel importante que teve na realização de estudos inerentes a esta tese.

Um obrigado ao ISEP que, no fundo, foi ao longo destes anos a minha casa, onde me foi possível crescer e aprender todos os dias tornando-me uma pessoa mais responsável e competente. Um

obrigado também ao CIETI por me ter proporcionado as instalações e recursos necessários para que este estudo se realizasse.

E sem dúvida alguma o meu forte obrigado pela constante preocupação e interesse por parte da minha família relativamente à feitura da tese. Um apoio constante e motivador, um porto de abrigo aberto sempre que quisesse atracar o meu barco.

Um obrigado aos amigos pelas perguntas constantes acerca da tese e pelas palavras incentivadoras.

E por fim, um obrigado a mim mesmo. Por ter enfrentado todos os receios e dificuldades, umas vezes com ajuda, outras sem ela. Por ter acreditado que era possível demonstrando com esta tese isso mesmo. Estamos todos de parabéns!!!

## RESUMO

Nos dias de hoje a contaminação dos solos e águas subterrâneas com pesticidas através da agricultura tornou-se um problema. Problema este, considerado ainda maior nas áreas onde o abastecimento de água potável é quase totalmente à base de água subterrânea, causando deste modo risco para a saúde humana devido à exposição directa de possíveis resíduos de pesticidas na água potável.

É certo que a persistência dos pesticidas no solo é importante para obter um bom controlo sob as ervas daninhas durante a sua época de crescimento, contudo o uso desses pesticidas contamina não só o solo como as águas superficiais.

As questões acerca do uso de pesticidas na actualidade continuarão a persistir, uma vez que existem muitos factores e características inerentes a este processo que necessitam de ser abordadas e mais importante que isso estudadas, como por exemplo a sua degradação e toxicidade.

Neste trabalho efectuou-se o encapsulamento de pesticidas em moléculas de  $\beta$  – ciclodextrina ( $\beta$ -CD). O que se pretende com este encapsulamento, é aumentar a hidrofiliabilidade do pesticida de forma a garantir que este persista o tempo suficiente permitindo um bom controlo das ervas daninhas, tendo sempre em conta as preocupações inerentes ao uso dos pesticidas, como por exemplo a dificuldade de biodegradação.

O estudo centrou-se em torno de dois dos pesticidas mais utilizados em Portugal: MCPA e Bentazona. Estes herbicidas foram encapsulados individualmente na  $\beta$ -CD formando assim complexos, mais solúveis e eventualmente mais estáveis quimicamente garantindo uma redução dos efeitos dos pesticidas no meio ambiente.

Este estudo foi dividido essencialmente em duas partes: a síntese e caracterização dos complexos pesticida- $\beta$ -CD e posteriormente a avaliação da estabilidade química em solução aquosa e da solubilidade dos complexos formados.

A utilização de diversas técnicas analíticas nomeadamente DSC, FTIR, Espectrofotometria de UV, HPLC e Electroquímica permitiram concluir que o pesticida MCPA encapsula pela acção da  $\beta$ -CD aquando do complexo formado em solução etanólica e numa proporção estequiométrica MCPA: $\beta$ -CD de 1:2 respectivamente. Obteve-se para as várias soluções

estudadas, todas elas com concentrações diferentes de  $\beta$ -CD, uma constante de estabilidade de 102,4.

No caso da Bentazona, os resultados preliminares obtidos indiciam claramente a formação de um complexo com a  $\beta$ -CD para o complexo formado em solução etanólica.

**Palavras-chave:** MCPA, Bentazona,  $\beta$ -ciclodextrina, Solubilidade, Complexação, Encapsulamento.

**ABSTRACT**

Nowadays the contamination of soils and groundwater with pesticides through agriculture has become a problem. This problem is considered even greater in areas where drinking water is almost entirely based on groundwater, thus causing risk to human health due to direct exposure of possible pesticide residues in drinking water.

Admittedly, the persistence of pesticides in soil is important to get good control on the weeds during their growing season, however the use of these pesticides not only contaminate the soil as simultaneously surface water.

Questions about pesticide use at present will continue to persist, since there are many factors and characteristics inherent to this process that need to be addressed and more importantly studied, such as the degradation and toxicity.

This work aimed the encapsulation of pesticides in  $\beta$  - cyclodextrin ( $\beta$ -CD) molecules. The purpose of this encapsulation is to increase the hydrophobic of the pesticide to ensure that this continues long enough allowing good control of weeds, taking into account the concerns inherent to the use of pesticides, such as the difficulty of biodegradation.

The study centered around two of the pesticides most used in Portugal: MCPA and bentazone. These herbicides were individually encapsulated in  $\beta$ -CD forming complexes more soluble and potentially more stable chemically ensuring a reduction of the effects of pesticides on the environment.

This study was divided into two main parts: the synthesis and characterization of complex pesticide- $\beta$ -CD and subsequently evaluation of the chemical stability in aqueous solution and the solubility of the complexes formed.

The use of analytical techniques such as DSC, FTIR, UV spectrophotometry, HPLC and electrochemistry enabled to conclude that the pesticide MCPA encapsulates by the action of  $\beta$ -CD. A complex was obtained with a stoichiometric ratio MCPA: $\beta$ -CD of 1:2, respectively. Along this study a stability constant of 102.4 was obtained for the complex MCPA: $\beta$ -CD. Preliminary results performed for the herbicide bentazone, clearly indicate the formation of a complex with  $\beta$ -CD complex. Further studies are now in progress with this pesticide.

**Key-words:** MCPA, Bentazone,  $\beta$ -ciclodextrin, Solubility, Complexation, Encapsulation.

## ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....	1
1.2 POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES.....	1
1.3 PESTICIDAS .....	4
1.3.1 Ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético (MCPA) .....	6
1.4.2 PROPRIEDADES .....	12
1.4.3 CARACTERÍSTICAS .....	13
1.4.4 ENCAPSULAMENTO COM CICLODEXTRINAS.....	14
1.4.5 ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DO ENCAPSULAMENTO.....	17
1.4.6 APLICAÇÕES .....	18
CAPÍTULO 2. PARTE EXPERIMENTAL.....	20
2.1 Reagentes e solventes.....	20
2.2 Equipamento/Material .....	20
2.3 PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS EM SOLUÇÃO .....	22
2.3.1 MCPA .....	22
2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS .....	23
2.4.1 Calorímetro de Varrimento Diferencial (DSC).....	23
2.4.2 Espectroscopia de Infra-Vermelho (FTIR).....	24
2.4.3 Ensaios de solubilidade.....	24
2.4.4 Estudos analíticos das soluções resultantes dos ensaios de solubilidade	25
2.5 Estudo da Bentazona .....	26
2.5.1 Preparação dos seus complexos e sua caracterização.....	26
CAPÍTULO 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1 Estudo da complexação MCPA - $\beta$ -CD.....	28
3.1.1. Preparação dos complexos .....	28
3.1.2 Caracterização dos complexos .....	28
3.1.3 Ensaios de Solubilidade do MCPA e do complexo.....	36
3.1.4 Estudos analíticos das soluções resultantes dos ensaios de solubilidade	41
3.2 Bentazona .....	47
3.2.1 Caracterização dos complexos formados .....	47
CAPÍTULO 4. CONCLUSÕES .....	54
CAPÍTULO 5. BIBLIOGRAFIA.....	56



## LISTA DE ABREVIATURAS

Abs - Absorvância

APE - Agência Proteção Ambiental

DSC – Calorímetro de Varrimento Diferencial

$E_p$  - Potencial de pico

FTIR – Espectroscopia de Infra-Vermelho

HPLC – Cromatografia Líquida

$I_p$  - Intensidade de Pico

K - Constante de estabilidade

MCPA - Ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético

POPs - Poluentes Orgânicos Persistentes

Q - Caudal

rpm - Rotações por minuto

S0 - Solubilidade da solução na ausência de  $\beta$ CD

T - Temperatura

$t_r$  - Tempo de retenção

UV/Vis - Espectrofotometria Ultravioleta Visível

$\beta$ CD -  $\beta$  – ciclodextrina

## **CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO**

Na década de 60, do século passado, verificou-se um forte crescimento oriundo da economia ocidental, proporcionando desse modo a prosperidade da indústria e uma ilusória perspectiva de um mundo admirável e aliciante. Contudo, com o decorrer do tempo, tornou-se cada vez mais forte e evidente a existência de problemas a nível ambiental. Os sinais da poluição que apareciam a uma velocidade considerável eram cada vez mais visíveis e impossíveis de negar, agravando assim o meio ambiente existente. Chegara a era dos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs).

Alguns destes poluentes foram encontrados nos humanos, mais propriamente no leite materno, assim como em várias espécies de animais espalhadas por todo o mundo. A sua existência teve em muitos casos consequências graves e irreversíveis nos organismos, nomeadamente problemas na reprodução dos animais que originaram uma séria ameaça à espécie, e mesmo a possibilidade de extinção. A contaminação nos animais acabou por se alargar, consequentemente, à alimentação dos humanos, aumentando as probabilidades de risco para os mesmos. Este factor veio despertar a preocupação da sociedade mundial alertando todos para o perigo iminente. Em 1972, começaram os primeiros esforços com a protecção ambiental a ser tema de destaque. Foi na Conferência das Nações Unidas sobre o Ambiente Humano, em Estocolmo, que se começou a restringir o uso de diversos poluentes persistentes.

Na actualidade a problemática ambiental continua a ser um assunto em voga e que requer cada vez mais atitudes e medidas preventivas. É sem dúvida alguma um problema, a par das alterações climáticas e do buraco do ozono, com o qual a Humanidade terá que saber lidar urgentemente para não correr riscos ainda maiores que os actuais, assim como os infindáveis conflitos bélicos que acabam por estar nalguns casos relacionados.

### **1.2 POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES**

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são compostos altamente estáveis e que persistem no ambiente, resistindo à degradação química, fotoquímica e biológica. Têm a capacidade de bio-acumular em organismos vivos, sendo tóxicos para estes, nomeadamente para o homem. Para além de actuarem negativamente nos sistemas

reprodutivo, imunitário e endócrino dos seres humanos, também são apontados como carcinogénicos. Têm também a capacidade de serem transportados a longas distâncias pela água, vento ou pelos próprios animais <sup>[1,2,3]</sup>. Assim sendo, existem várias possibilidades que tornam a propagação destes POPs extremamente fácil, significando assim uma elevada área contaminada.

Os poluentes orgânicos persistentes incluem inúmeras substâncias sintéticas pertencentes a várias famílias de compostos, sendo a estabilidade destes poluentes uma característica intrínseca, uma vez que na generalidade e na sua maioria, estes apresentam anéis aromáticos, ou seja, contêm um ou mais anéis de benzeno. Os hidrocarbonetos aromáticos podem tornar-se ainda mais estáveis quando um ou mais átomos de hidrogénio se encontram substituídos por halogéneos (flúor, cloro, bromo ou iodo). O cloro tem sido largamente usado com este fim, encontrando os compostos obtidos inúmeras aplicações na agricultura (em biocidas) e na indústria (em solventes, agentes de limpeza, plásticos, etc.). Da Convenção de Estocolmo, resultaram doze POPs considerados prioritários, todos eles aromáticos, tendo sido agrupados em três categorias: pesticidas - aldrina, clordano, DDT, dieldrina, endrina, heptacloro, mirex e toxafeno; químicos industriais - PCBs e hexaclorobenzeno e por fim, subprodutos involuntários de processos industriais de combustão - dioxinas e furanos. Em 2000 em Joanesburgo, África do Sul, mais de cem países reuniram com o propósito de encontrarem soluções para eliminar estes doze POPs prioritários. Desta convenção resultaram sete resoluções <sup>[4]</sup>:

- O princípio da precaução;
- Obrigações de financiamento como auxílio, de países desenvolvidos a países em desenvolvimento;
- Eliminação dos POPs produzidos intencionalmente, existentes e futuros, com excepção do DDT, sendo autorizado o seu fabrico apenas para controlo de insectos transmissores de doenças (malária);
- A eliminação, como objectivo último, dos sub-produtos orgânicos persistentes (dioxinas, furanos e hexaclorobenzeno);
- A gestão e deposição sustentáveis de POPs;
- Limites estritos e interdições ao comércio de POPs;
- Reservas limitadas e transparentes: a maior parte das reservas à Convenção – ou seja, excepções à sua aplicação – são específicas para certos países ou certos químicos. As medidas de controlo definidas na Convenção foram implementadas por legislação comunitária, nomeadamente através do Regulamento (CE) nº 850/2004 do Parlamento Europeu e Conselho de 29 de Abril de 2004 sobre poluentes orgânicos

persistentes que emendou a Directiva 79/117/EC, do Regulamento (CE) nº 304/2003 do Parlamento Europeu e Conselho de 28 de Janeiro de 2003 sobre a exportação e importação de produtos químicos perigosos e da Directiva do Conselho 96/59/EC de 16 de Setembro de 1996 sobre deposição de bifenilos policlorados e terfenilos policlorados (PCB/PCT). O Conselho aprovou, em nome da Comunidade Europeia a Convenção através da sua Decisão 2004/12649/EC de 14 de Outubro de 2004. A Convenção entrou em vigor em 17 de Maio de 2004. Portugal ratificou a Convenção através do Decreto nº 15/2004 de 3 de Junho. <sup>[5]</sup>

A estabilidade dos poluentes persistentes acaba por ser, em certos casos, vantajosa e também uma mais-valia como, por exemplo, o facto de o seu uso retardar ou impedir a propagação do fogo. Estes poluentes eram também usados frequentemente uma vez que o seu poder enquanto pesticida era duradouro. No entanto, a concentração das substâncias no meio ambiente aumentava a um ritmo indesejado, uma vez que o ritmo a que eram libertadas era superior ao da sua degradação, originando deste modo problemas.

São compostos que possuem baixa solubilidade na água, mas alta solubilidade nos lípidos, o que tem como principal consequência a sua acumulação nos tecidos adiposos. Esta característica, aliada à sua persistência (intervalo de tempo que um composto é capaz de permanecer no ambiente antes de ser degradado noutros compostos mais simples), potencia a sua perigosidade ao nível da cadeia alimentar, e consequentemente, os riscos de exposição dos consumidores de topo, como é o caso do homem. A sua semi-volatilidade favorece o seu aparecimento em fase gasosa e a sua adsorção em partículas atmosféricas, o que facilita o transporte aéreo por longas distâncias. <sup>[5]</sup>

A presença dos POPs faz-se sentir nos seis continentes mesmo em regiões onde nunca foram fabricados ou manipulados. Alguns destes, foram sujeitos a restrições mas a sua utilização é ainda muito comum em vários países. Factores como custos elevados e fraca divulgação têm contribuído para que as alternativas existentes não tenham ainda uma utilização generalizada. Embora à temperatura ambiente se apresentem no estado sólido ou líquido, a maioria dos POPs é volátil, podendo, deste modo, existir também no estado gasoso. As características químicas de cada composto, tal como a volatilidade, polaridade ou solubilidade, explicam a tendência relativa para se alojarem nos lípidos, se dispersarem pelo ar ou se adsorverem a sedimentos. O equilíbrio que se estabelece entre as diversas fases – sólida, líquida e gasosa –, é dinâmico, com trocas mútuas e constantes entre elas. <sup>[5]</sup>

Os poluentes persistentes têm variadíssimas aplicações. Felizmente, para a maior parte destas já existem alternativas que representam um menor impacto ambiental. Eis alguns exemplos <sup>[4]</sup> <sup>[5]</sup>:

- Pneus e derivados de petróleo usados para fazer asfalto, combustíveis, lubrificantes;
- Plásticos com múltiplas utilidades;
- Resinas usadas em adesivos, impermeáveis e tintas;
- Intermediários químicos usados para fabricar outros químicos;
- Solventes líquidos utilizados para manter outros materiais em solução, por exemplo em tintas e produtos de limpeza;
- Surfatantes (produtos usados em detergentes para promover uma interacção entre o produto e o material em que é aplicado);
- Elastómeros (borracha sintética como o neoprene);
- Químicos do processamento da borracha;
- Plastificantes (usados em plástico para conferir flexibilidade);
- Fármacos;
- Perfumes e aromatizantes (os industriais recorrem regularmente ao uso de materiais sintéticos para que os produtos tenham o sabor e o cheiro que desejam);
- Corantes e pigmentos (usados desde a tinta dos carros, à coloração das roupas e mesmo na alimentação);
- Pesticidas.

### 1.3 PESTICIDAS

Com o aparecimento de seres vivos que destruíam ou danificavam as colheitas agrícolas, o Homem foi forçado a intervir tomando medidas preventivas. Inicialmente adoptou métodos inofensivos como a monda. Até ao século XIX não se utilizou qualquer substância sintética uma vez que a química tinha na respectiva altura na agricultura pouca importância, reflectindo desse modo uma época pouco marcada pelo poder e impacto dos pesticidas. Outro factor para a não utilização de substâncias sintéticas reside no facto de as técnicas de aplicação destas substâncias não se encontrarem suficientemente desenvolvidas. Tendo sido necessário com o tempo desenvolvê-las e aperfeiçoá-las.

Uma nova era industrial surgiu no início do século XX e sobretudo após a II Guerra Mundial com a generalização da produção e uso de químicos sintéticos. Esta situação também se verificou no nosso país, nomeadamente quanto ao uso de pesticidas, isto é, substâncias ou

misturas que têm como objectivo impedir, destruir, repelir qualquer praga.<sup>[44]</sup> Em 1973 surge a “Lista dos produtos fitofarmacêuticos com venda autorizada” editada pela Direcção Geral de Protecção de Culturas do Ministério da Agricultura onde se pode ler “Os inimigos das culturas causam estragos de elevado valor destruindo ou danificando as suas colheitas. As quebras de produção aliadas à desvalorização dos produtos agrícolas nos mercados, resultante do mau aspecto dos mesmos quando afectados, representam um factor de marcada importância na economia da sua exploração agrícola. Ao seu alcance encontra um precioso meio – os pesticidas – para combater as pragas, as doenças e as infestantes que devastam as suas culturas”.<sup>[45]</sup> Toda esta pressão e publicidade fomentaram fortemente a aplicação de pesticidas, levando à banalização da prática e à sua utilização por vezes sem qualquer tipo de restrições ou cuidados. Através do processo de selecção natural, as pragas podem-se tornar muito resistentes à acção do pesticida, levando a uma atitude inconsequente por parte dos agricultores que passam, assim, a aumentar a quantidade do pesticida usado, não se apercebendo do grave erro que estão a cometer intensificando ainda mais o problema.<sup>[4]</sup>

Dada a perigosidade que, em geral, os pesticidas apresentam seja durante a manufactura, transporte, durante e/ou depois do seu uso, foi necessário um maior rigor e controlo dos pesticidas no mercado com o propósito de diminuir o uso excessivo e desmedido dos mesmos. Como tal, recorreu-se a uma legislação, aplicada na maior parte dos países, que determina que a venda ou uso de um pesticida deve ser aprovada por uma agência do governo. Antes dos pesticidas serem comercializados, são efectuados diversos estudos com o objectivo de provar a sua eficácia no combate às pragas. Para se ter uma noção, alguns deles são tão perigosos que a sua venda não é permitida ao público em geral, apenas a pessoas e/ou organizações que passaram por avaliações prévias.

A própria União Europeia (UE) adoptou um conjunto de medidas destinadas a reduzir os riscos da utilização destes pesticidas, quer para o ambiente quer para a saúde humana, obtendo deste modo uma utilização mais sustentável dos pesticidas e consequentemente uma redução global significativa dos riscos e utilizações desses produtos, garantido ao mesmo tempo que não haja uma perda de rendimento por parte dos utilizadores profissionais. As medidas adoptadas incidem no reforço da vigilância e da investigação sobre os pesticidas, na formação e informação dos utilizadores destes compostos e também em medidas específicas ligadas ao uso dessas substâncias.<sup>[6]</sup>

Os pesticidas são usados em diversas formas de seres vivos, como por exemplo os insectos, moluscos, pássaros, mamíferos, peixes, nematelmintos (alusivo a vermes), micróbios e ervas daninhas (neste caso designados herbicidas).

Produzidos especificamente pela sua toxicidade, é surpreendente que os efeitos dos pesticidas na saúde dos seres vivos sejam considerados não intencionais. Consoante os químicos, efeitos crónicos potenciais incluem carcinomas, alterações genéticas e modificações do sistema imunitário e nervoso, entre outros. A curto prazo podem verificar-se problemas de pele e de olhos, tonturas, náuseas e cansaço.

Como seria de esperar, os problemas inerentes ao uso de pesticidas não se verifica somente nos seres humanos mas também, obviamente, no meio ambiente e nos solos. O uso de agrotóxicos, ou também conhecidos como defensivos agrícolas, que também actuam sobre ervas daninhas, deve ser moderado e com alguns cuidados, pois se tal não acontecer ocorre a contaminação e desertificação do solo. O uso intenso destes agrotóxicos pode levar a uma degradação dos recursos naturais e em alguns casos de forma irreversível, originando desequilíbrios biológicos e ecológicos, entre eles a contaminação dos lençóis freáticos e como é natural, do próprio solo. <sup>[7]</sup>

Os herbicidas, classificados como um tipo de pesticida, são produtos químicos utilizados na agricultura com o propósito de controlar as ervas daninhas. Têm como principais vantagens a sua rapidez de acção, efeito residual, um custo reduzido e não revolvem o solo. Contudo, a sua aplicação traz também alguns problemas tais como a contaminação ambiental, que é talvez a sua maior desvantagem e a possibilidade de surgimento de ervas resistentes aos herbicidas, pois estas vão criando as suas defesas. Quanto à sua toxicidade, esta é amplamente variável. Além da toxicidade aguda de exposições elevadas existe também a preocupação relativamente aos efeitos carcinogénicos, bem como outros problemas a longo prazo, como é o caso da doença de Parkinson. <sup>[8]</sup>

Tal como os pesticidas, também os herbicidas estão subdivididos em classes dependendo da família química. De seguida apresentam-se apenas algumas das famílias dos herbicidas: amidas, triazinas, aromáticos, carbamatos, dinitroanilinas, organofosforados e fenóxi. <sup>[9]</sup>

### **1.3.1 Ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético (MCPA)**

O herbicida MPCA, encontra-se na sub-família dos herbicidas fenoxi, mais propriamente nos fenoxiacéticos. A sua fórmula é  $C_9H_9ClO_3$  e apresenta a seguinte estrutura química:

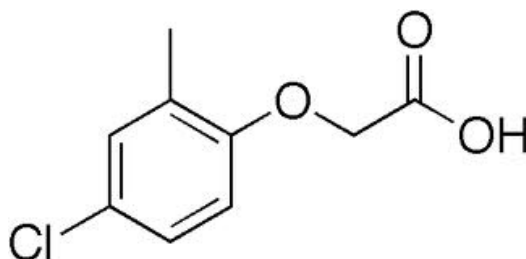


Figura 1.1 Estrutura do herbicida MCPA. [adaptado de 46]

Este herbicida foi descoberto na década de 40, sendo a sua síntese descrita em 1945 por Synerholme e Zimmerman e um ano depois por Templeman e Foster que tinham como objectivo encontrar um composto similar ou até mesmo com maior actividade selectiva relativamente ao ácido 1-naftalenoacético, este de classe III segundo a classificação toxicológica, que inibisse o crescimento de ervas daninhas e que ao mesmo tempo não afectasse de uma forma negativa o crescimento de grãos de cereais. Templeman e Foster sintetizaram o MCPA a partir do seu fenol expondo-o ao ácido cloroacético e diluindo a base numa simples reacção de substituição <sup>[10][11]</sup>:

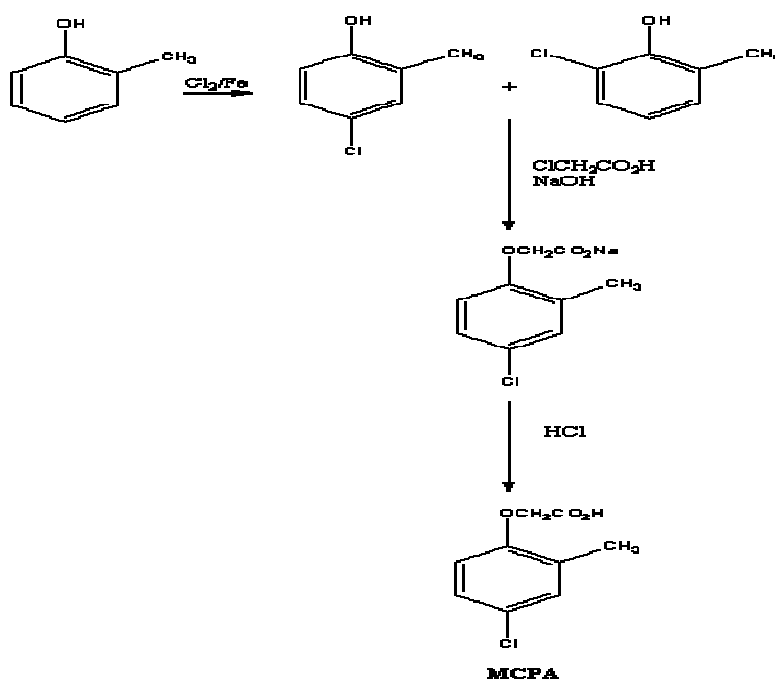
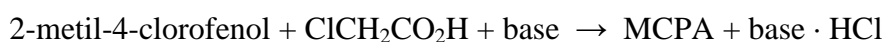


Figura 1.2 Síntese do MCPA. [adaptado de 14]



O MCPA controla as ervas daninhas nas culturas de cereais de inverno, cana-de-açúcar, amendoim, linho, prados de gramíneas e sorgo (quinto cereal mais importante do mundo, o que só vem demonstrar a grande importância do MCPA).

Embora este herbicida seja usado com frequência em detrimento de outros produtos graças à sua elevada selectividade, devido ao facto de não persistir no solo e de representar baixa toxicidade para os mamíferos, é actualmente classificado como um pesticida de uso restrito pois a sua toxicidade e biodegradação são temas de pesquisa actual.

Este herbicida, é considerado, segundo a classificação toxicológica, de classe II (moderadamente tóxico) porque causa poucos problemas directos ao ambiente mas são relativamente solúveis e atingem águas subterrâneas e águas superficiais.<sup>[48]</sup> Apesar de não ser extremamente tóxico, foi recentemente determinado que o pesticida MCPA forma complexos com iões metálicos aumentando assim a sua biodisponibilidade estando, inclusive, a ser efectuados estudos que visam a utilização desta capacidade.<sup>[12]</sup> De referir que pode ainda causar irritação ocular severa. Este pesticida também não apresenta evidências acerca de possíveis efeitos cancerígenos.<sup>[13]</sup>

Estudos realizados relativos ao impacto deste herbicida no ambiente mostraram que o teor de matéria orgânica do solo determina, em grande parte a persistência de MCPA. Em solos com menos de 10% de matéria orgânica, o composto é degradado num dia enquanto que em solos com teores, superiores a 10%, este composto leva de entre 3 a 9 dias para se degradar. Nenhum MCPA foi detectado num solo de floresta a uma profundidade de 3-15 cm quarenta dias após a aplicação. O tempo de semi-vida do MCPA em solos ligeiramente ácidos ou alcalinos é de cerca de 5 a 6 dias.

### 1.3.2. BENTAZONA

Para além das classes de herbicidas anteriormente referidas, existe uma destinada àqueles compostos que não se enquadram em nenhuma classe. A bentazona está precisamente nessa categoria uma vez que não possui características comuns que se possam enquadrar nas outras famílias de herbicidas já existentes.

A bentazona, cujo nome químico é 3-isopropil-1H-2,1,3 benzothiadiazina-4 (3H)-ona 2,2-dióxido, e com a seguinte fórmula  $C_{10}H_{12}N_2O_3S$ , apresenta a estrutura química abaixo evidenciada:

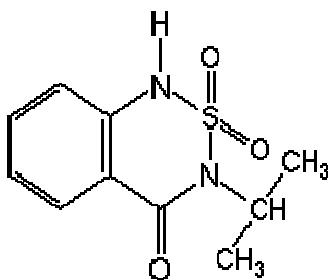


Figura 1.3 Estrutura do herbicida Bentazona. [adaptado de 15]

A bentazona pura é um sólido cristalino inodoro e incolor. Já por sua vez, a bentazona comercial apresenta uma leve cor castanha. <sup>[16]</sup> Este herbicida é estável a temperaturas e pressões normais, contudo, se for exposto ao calor ou à chama pode apresentar um risco de incêndio pequeno. Na presença de oxidantes fortes o risco de incêndio e explosão aumenta face ao caso anterior, uma vez que a decomposição térmica da bentazona liberta óxidos de azoto e enxofre tóxicos. <sup>[17]</sup>

É usada como substância activa em produtos fitofarmacêuticos ou pesticidas, que têm um efeito herbicida. Para além de ser considerado um herbicida de amplo espectro utilizado em várias culturas, nomeadamente para o controlo selectivo de ervas daninhas de folha larga e ciperáceas no feijão, arroz, milho, amendoim e hortelã é também considerado um herbicida de contacto, ou seja, só causa prejuízo às partes da planta onde é aplicado. <sup>[18]</sup> <sup>[19]</sup> Nas primeiras 4-8 horas é visível o ferimento à superfície das folhas tratadas, seguido da morte das plantas. <sup>[20]</sup> Quando as raízes das plantas absorvem a bentazona, esta transfere-se para outras partes da planta. O grau de transferência deste herbicida depende do tipo de planta em questão. Em qualquer dos casos, a bentazona é rapidamente metabolizada e incorporada nos componentes de plantas naturais. É absorvida pelas partes verdes das plantas e tem pouco efeito na germinação das sementes. Estudos realizados com vista a determinar o efeito da bentazona nas plantas que são resistentes ao pesticida e nas plantas que lhes são susceptíveis, indicaram que este herbicida apenas consegue matar as plantas que não têm capacidade de metabolizar este composto. <sup>[21, 22, 23]</sup>

Dado o poder que a bentazona tinha sobre as plantas, em 1985, a APE (Agência de Protecção Ambiental) colocou restrições sobre o uso deste composto na vegetação, nomeadamente os campos de milho que não podiam ser trabalhados pelo menos doze dias após a última aplicação de bentazona de sódio. Outra das medidas tomada pela APE foi a de alertar e exigir o máximo cumprimento no que concerne ao uso deste pesticida tendo

sempre em consideração a rotulagem do mesmo. É expressamente proibido o uso da bentazona, ou qualquer outro insecticida, de um modo incompatível com a rotulagem.

Este herbicida sofre fotodegradação por duas vias, desagregação por radiação ultravioleta (UV) proveniente do sol e biodegradação por bactérias e fungos do solo.<sup>[19, 21]</sup> Contudo, tem uma alta mobilidade no solo e é moderadamente persistente no meio ambiente. Este pesticida é estável à hidrólise e tem um tempo de semi-vida de menos de 24 horas na água em resultado da fotodegradação que sofre. Pode estar presente em águas superficiais e subterrâneas e até mesmo na água potável, com uma concentração na ordem dos micromolar ou até menos. A bentazona apesar de ter sido encontrada em águas subterrâneas e tendo uma grande afinidade relativamente ao meio aquático não se acumula no meio ambiente. A bentazona é tão rapidamente degradada nas camadas superiores do solo pela luz solar e pelos micróbios que não tem tendência a mover-se abaixo da camada arável do solo.<sup>[20, 24]</sup>

A classificação toxicológica da bentazona é a classe II (moderadamente tóxico) e relativamente à toxicidade aguda deste pesticida, é moderadamente tóxico por ingestão e levemente tóxico por absorção dérmica.<sup>[12, 17, 48]</sup> Uma possível ingestão por parte de um ser humano teria como consequência a ocorrência de vómitos, diarreia, fraqueza, dificuldades na respiração e outros problemas no organismo. Tal como acontece com o MCPA, embora com um menor efeito, também a bentazona tem efeitos negativos quando em contacto com os olhos, e a pele. Este herbicida também foi testado em animais, mamíferos, e os efeitos encontrados foram idênticos aos dos humanos. Quanto à sua toxicidade crónica, a exposição prolongada da pele ou olhos ao pesticida pode causar dermatite ou conjuntivite.<sup>[17]</sup>

Abordando os efeitos cancerígenos deste pesticida, é possível afirmar que não é cancerígeno segundo a APE, uma vez que os Estudos efectuados em laboratório não foram conclusivos para determinar se a bentazona pode aumentar o risco de cancro nos seres humanos pelo que a APE considera este herbicida como sendo não cancerígeno.<sup>[25, 26]</sup>

Um dos grandes problemas associados ao uso de pesticidas é a insolubilidade destes na água. Uma vez insolúveis, estes acabam por se depositar à superfície de sedimentos ou mesmo de seres vivos, percorrendo curtas distâncias relativamente ao ponto de origem. Comparando a quantidade de poluentes existente no ar com a quantidade armazenada na água é possível constatar que o primeiro caso é insignificante. Como tal, é justo dizer que a libertação dos pesticidas directamente na água acaba por ser um problema com elevada gravidade e de crescente preocupação e para evitar isso mesmo e com a perspectiva de

tornar os pesticidas mais solúveis em água, tem-se recorrido à utilização de moléculas, nomeadamente de ciclodextrinas, que sejam capazes de encapsular os pesticidas originando desse modo complexos que acabam por se tornar mais solúveis na água. <sup>[27]</sup>

## 1.4 CICLODEXTRINAS

### 1.4.1 HISTÓRIA

Quando Villiers obteve uma pequena quantidade de material cristalino aquando da degradação enzimática do amido da batata, resolveu chamá-lo de “cellulosine”. Corria o ano de 1891 quando as ciclodextrinas (CD) foram descobertas.

Poucos anos depois, mais precisamente em 1903, Schardinger conseguiu isolar dois produtos cristalinos, que designou de dextrinas –  $\alpha$  e  $\beta$ , que foram descritos no que se refere à sua falta de poder redutor. Infelizmente, a estirpe bacteriana capaz de produzir estes produtos do amido não foi conservada. Em 1904, Schardinger isolou um novo organismo capaz de produzir acetona e álcool etílico de açúcar e de um (qualquer) produto vegetal contendo amido. *Bacillus macerans* foi o nome atribuído por Schardinger para esta estirpe, que produzia grandes quantidades de dextrinas (25-30%) a partir do amido. <sup>[27]</sup> Esta estirpe é capaz de romper um segmento da hélice do amido e unir as duas porções terminais deste fragmento numa única molécula cíclica. As dextrinas são também conhecidas por cicloamilases ou ciclomaltoses. <sup>[27, 28]</sup>

Em 1935, Schardinger, conseguiu isolar um novo tipo de dextrina, a dextrina  $\gamma$ , que é composta por uma maior quantidade de unidades que as dextrinas  $\alpha$  e  $\beta$ .

Três anos depois, Freudenberg confirmou a estrutura cíclica da dextrina  $\gamma$ , assim como a sua capacidade para formar complexos de inclusão. <sup>[27]</sup> A estrutura circular das ciclodextrinas consiste num exterior hidrofílico e numa cavidade central hidrofóbica.

As estruturas das dextrinas  $\alpha$  e  $\beta$  só foram determinadas em 1942 por cristalografia de raios-x e em 1961 verificou-se a existência natural de outras ciclodextrinas. <sup>[27]</sup>

As ciclodextrinas são oligossacáridos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações glicosídicas alfa (1,4), com estrutura semelhante a um tronco de cone, obtidas através da degradação enzimática do amido sendo assim, possível obter a ciclização de seis, sete ou oito unidades de glicose, dando origem à  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD, respectivamente, que adoptam a conformação de cadeira. <sup>[29]</sup>

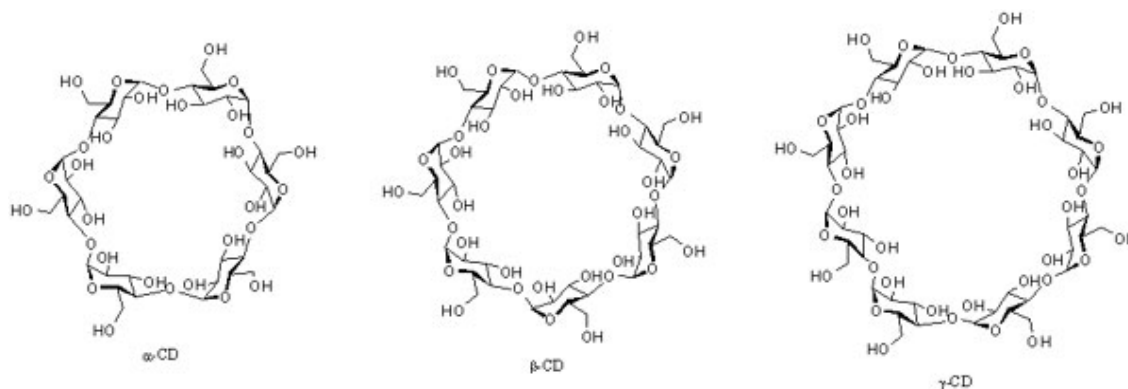


Figura 1.4 Estruturas moleculares de ciclodextrinas naturais:  $\alpha$  – ciclodextrina,  $\beta$  – cilcodextrina e  $\gamma$  – ciclodextrina respectivamente. <sup>[adaptado de 30]</sup>

### 1.4.2 PROPRIEDADES

As propriedades físicas e as dimensões moleculares das ciclodextrinas mais comuns apresentam-se apresentadas na Tabela 1. <sup>[32]</sup>

Tabela 1 Propriedades físicas das ciclodextrinas <sup>[32]</sup>

Propriedades	$\alpha$ CD	$\beta$ CD	$\gamma$ CD
Número de unidades de glicose	6	7	8
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Solubilidade em água (g/100mL) 25°C	14,5	18,6	23,2
Diâmetro Interno (Å)	4,9	6,2	7,9
Diâmetro Externo (Å)	14,6	15,4	17,5
Altura do cone (Å)	7,9	7,9	7,9
Volume da cavidade (Å <sup>3</sup> )	176	346	510

A  $\beta$ -ciclodextrina é de entre os tipos de ciclodextrinas anteriormente referidos, a mais acessível e também a mais económica, sendo deste modo vista como a melhor escolha para estudos de encapsulamento e como tal a mais utilizada. <sup>[27]</sup>

Das três ciclodextrinas, é também a que apresenta menor solubilidade, como se pode observar na tabela 1, em função do elevado número de ligações de hidrogénio intra-moleculares entre os grupos hidroxilo secundários existentes na molécula. Na  $\alpha$ -ciclodextrina só quatro das suas seis ligações de hidrogénio possíveis podem ser estabelecidas, em virtude de uma unidade de glicose se encontrar em posição distorcida. A

$\gamma$ -ciclodextrina por apresentar uma estrutura flexível, faz com que seja a mais solúvel das três ciclodextrinas. <sup>[30]</sup>

Além destas ciclodextrinas obtidas via processos naturais, muitas outras derivações têm vindo a ser sintetizadas. <sup>[33]</sup>

Possuindo as ciclodextrinas uma cavidade interna com determinado diâmetro a molécula a ser encapsulada terá que ter um diâmetro apropriado de acordo com a ciclodextrina em questão. Assim sendo, a ciclodextrina dependendo do seu tipo e do tamanho da sua cavidade poderá encapsular diferentes moléculas hóspedes. <sup>[34, 38]</sup> Uma vez que as ciclodextrinas têm a capacidade de se ligarem mutuamente de forma covalente ou não covalente, estas podem ser utilizadas como blocos unitários para a construção de complexos supra moleculares.

### 1.4.3 CARACTERÍSTICAS

As ciclodextrinas têm como principal característica o facto de formarem compostos de inclusão em solução aquosa. Para isso, tem que existir um encaixe perfeito no que diz respeito às dimensões entre a molécula e a ciclodextrina, pois é na cavidade desta que a molécula será introduzida.



Figura 1.5 Representação da estrutura da ciclodextrina. <sup>[adaptado de 31]</sup>

Graças a vários estudos realizados com recurso a ensaios raios-X, foi possível determinar que as ciclodextrinas têm uma superfície exterior hidrofílica, o que permite a sua dissolução em água e contêm uma cavidade apolar, proporcionando uma matriz hidrofóbica, ou seja, é capaz de formar complexos de inclusão com vários tipos de moléculas hóspedes, sendo esta portanto uma vantagem da ciclodextrina.

As diferentes características que a ciclodextrina possui, permitem o estudo de diversos processos de encapsulamento de moléculas. Uma ou mais moléculas, consoante o seu peso molecular e a sua dimensão, podem ser encapsuladas na cavidade de um, duas ou três ciclodextrinas. <sup>[27]</sup>

#### 1.4.4 ENCAPSULAMENTO COM CICLODEXTRINAS

A principal característica da ciclodextrina é, sem dúvida alguma, a sua capacidade para formar complexos de inclusão, vulgo encapsulamento, com uma grande variedade de compostos líquidos, sólidos e até gasosos, por complexação molecular, onde a molécula hóspede é retida dentro da cavidade da molécula de ciclodextrina. <sup>[27]</sup> Existem vários tipos de moléculas hóspedes que a ciclodextrina pode encapsular, desde hidrocarbonetos alifáticos, aldeídos, cetonas, álcoois, até ácidos orgânicos, ácidos gordos, compostos aromáticos, gases e compostos polares como halogéneos, aminas ou oxoácidos. <sup>[38]</sup>

São dois os factores principais para o encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina, são eles: o tamanho relativo da ciclodextrina face ao composto a ser encapsulado ou a determinados grupos funcionais desse mesmo composto. Se este não tiver a dimensão apropriada para a cavidade da molécula da ciclodextrina, não é incorporado correctamente e assim sendo não ocorre a complexação; o segundo factor crítico consiste nas interacções termodinâmicas entre os diferentes componentes do sistema em causa, nomeadamente a ciclodextrina, o composto a encapsular e o solvente. Para que haja complexação é necessário que exista uma força energética que atraia o composto hóspede para a cavidade da ciclodextrina. <sup>[27]</sup> Na figura 1.6 está representado o encapsulamento da molécula hóspede na ciclodextrina.

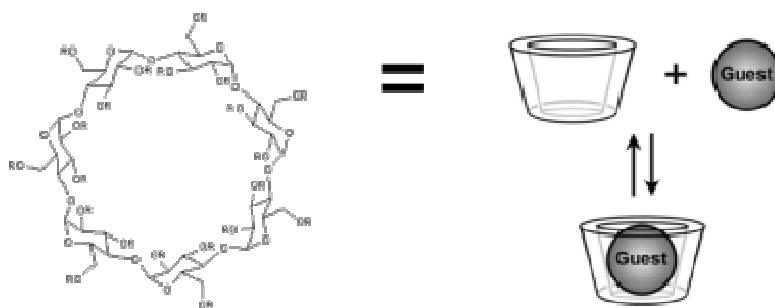


Figura 1.6 Representação esquemática da incorporação de um monómero (Guest) na cavidade de uma ciclodextrina. <sup>[adaptado de 35]</sup>

Durante a formação destes complexos não se quebram nem se formam quaisquer ligações covalentes. <sup>[36]</sup>

As moléculas de águas presentes no interior da cavidade da ciclodextrina, não conseguem satisfazer o potencial de ligações de hidrogénio desta e como tal apresentam uma entalpia mais elevada. E é esta libertação de moléculas de água, com elevada entalpia, da ciclodextrina que vai, segundo vários investigadores, fomentar a complexação. <sup>[27]</sup> Com a libertação destas moléculas de água e sua posterior substituição pelas moléculas hóspedes hidrofóbicas que se encontram na solução, a energia global do sistema acaba por baixar, criando assim associações apolar-apolar o que se traduzirá numa maior estabilidade da molécula de ciclodextrina.

Contudo, existem para além deste, outros mecanismos e embora menos preponderantes, que se encontram envolvidos na formação de complexos de inclusão, tais como interações de Van der Waals, interações hidrofóbicas, pontes de hidrogénio e efeitos de solvente.

Os complexos podem ser formados em solução ou no estado cristalino, sendo a água o solvente de eleição. Contudo, a complexação por inclusão com ciclodextrinas pode ocorrer num sistema com outro co-solvente presente, bem como na presença de um solvente não aquoso, denotando-se assim uma vasta gama de possibilidades de complexação por parte da molécula de ciclodextrina.

Existem compostos que não solubilizam em água, dificultando deste modo a complexação, tornando-a muito demorada ou até mesmo impossível de se realizar. Nestes casos, pode ser usado um solvente orgânico para dissolver o composto. O solvente utilizado deve poder ser removido facilmente por evaporação e não complexar com a ciclodextrina. O éter dietílico e o etanol são dois bons exemplos deste tipo de solventes. <sup>[27]</sup>

O encapsulamento de um composto dentro da cavidade da ciclodextrina é um factor vantajoso para este, uma vez que, estando nestas condições, que não são as normais entenda-se, o composto sofre alterações profundas nas propriedades físico-químicas sendo estas modificações benéficas para o mesmo. <sup>[27, 37]</sup>

Entre estas alterações de propriedades, salientam-se as seguintes:

- A solubilidade e velocidade de dissolução de substâncias pouco solúveis podem ser significativamente aumentadas;
- Muitas substâncias podem ser protegidas contra hidrólise, oxidação, isomerização, foto-oxidação ou outros processos de decomposição;
- Compostos voláteis podem ser fixados, evitando-se a sua perda por evaporação;



- Compostos líquidos podem ser transformados em pós, para posterior incorporação em formas sólidas;
- Compostos incompatíveis podem ser misturados, quando um deles for complexado;
- O sabor e odor desagradáveis de algumas substâncias podem ser mascarados;
- Produtos facilmente solúveis para preparações injectáveis, podem ser obtidos por liofilização com ciclodextrinas;
- Melhoria da biodegradação do composto, devido ao efeito da complexação com ciclodextrinas, que consequentemente aumenta a velocidade de dissolução de substâncias pouco solúveis.

Com base nas características apresentadas anteriormente, é possível afirmar que a  $\alpha$ -ciclodextrina complexa tipicamente moléculas de baixo peso molecular ou compostos com cadeias alifáticas, já por sua vez a  $\beta$ -ciclodextrina complexa principalmente compostos aromáticos e heterocíclicos e por fim a  $\gamma$ -ciclodextrina pode encapsular moléculas maiores como macrocíclicos e esteróides.

Em qualquer dos casos, as associações efectuadas entre as ciclodextrinas e os compostos a serem encapsulados, não apresentam carácter permanente, mas sim um equilíbrio dinâmico, que depende da estabilidade do complexo criado bem como de interacções específicas, existentes localmente, entre os átomos de superfície.

Existem quatro interacções energeticamente favoráveis, que ajudam a alterar o equilíbrio, para a formação dos complexos de inclusão:

- A libertação das moléculas polares de água da cavidade apolar da ciclodextrina;
- O aumento do número de ligações de hidrogénio formadas, proporcionadas pela libertação das moléculas de água;
- A redução das interacções repulsivas entre o composto hóspede hidrofóbico e o ambiente aquoso circundante;
- O aumento das interacções hidrofóbicas enquanto o composto hóspede é encapsulado na cavidade apolar da ciclodextrina.

Ao se formar o complexo, o equilíbrio inicial pode ser rapidamente atingido, já o mesmo não se aplica relativamente ao equilíbrio final que pode demorar a ser conseguido. Quando o composto hóspede se encontra dentro da cavidade da ciclodextrina, este vai realizar alguns ajustes de estrutura de modo a tirar o máximo partido das fracas forças de Van der Waals.

Normalmente, o encapsulamento com ciclodextrinas ocorre devido a um fenómeno estequiométrico, em que geralmente apenas uma molécula hóspede é inserida dentro da cavidade da ciclodextrina. Porém, no caso de compostos com baixo peso molecular, podem ser encapsuladas mais do que uma molécula e na situação oposta, ou seja, compostos com elevado peso molecular, pode ser necessária mais que uma molécula de ciclodextrina para o encapsulamento ser realizado. Por princípio, apenas uma porção do composto hóspede necessita de ser incluída na cavidade para ocorrer a complexação. Desta forma, as relações molares 1:1 nem sempre são obtidas, especialmente tratando-se de compostos de baixo ou elevado peso molecular. <sup>[27]</sup>

A capacidade de encapsulamento da ciclodextrina pode, contudo, ser afectada por diversas condicionantes mediante determinado composto.

A temperatura é um dos factores que influencia directamente o encapsulamento. O aquecimento pode aumentar tanto a solubilidade da ciclodextrina como do composto hóspede, levando deste modo a um aumento da probabilidade de ocorrência de complexação. Todavia, ao mesmo tempo, pode também desestabilizar o complexo formado, pelo que estes efeitos devem ser normalmente estudados.

A quantidade de água ou outro solvente também influencia a complexação. Quanto maior a quantidade do solvente, mais facilmente ocorre a complexação. Porém, tal como a temperatura, também existem preocupações a ter em consideração. À medida que a quantidade de solvente é aumentada progressivamente, há o risco de a ciclodextrina e o composto hóspede se tornarem diluídos demais, fazendo com que a reacção de complexação se torne menos extensa. Uma das condições que necessita, então, de ser optimizada, é a quantidade de ciclodextrina para determinada quantidade de composto. Por outro lado, a complexação ocorre mais rapidamente quando o composto hóspede se encontra na forma solúvel ou disperso sob a forma de pequenas partículas.

#### **1.4.5 ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DO ENCAPSULAMENTO**

Após o encapsulamento de um composto hóspede na cavidade da molécula de ciclodextrina e consequente equilíbrio de complexação, procede-se a uma avaliação do complexo(s) formado(s). Um dos métodos mais utilizados para avaliar os complexos com ciclodextrina é o descrito por Higuchi e Connors. <sup>[39]</sup> A análise da solubilidade na fase aquosa implica o estudo do efeito da ciclodextrina (solubilizador) no composto em estudo que se deseja encapsular (substrato), que para tal é solubilizado.

Com este método não só é possível avaliar qualitativamente os complexos formados como também pode ser utilizado para a determinação das constantes de equilíbrio do sistema.

Dependendo das características do material activo, a cinética de equilíbrio, etc, existem vários métodos para a preparação de complexos com ciclodextrinas. Contudo, independentemente da técnica utilizada, esta depende da água para a promover, nem que se trate de uma pequena quantidade.

Entre os métodos utilizados para preparar e/ou promover o encapsulamento de compostos em ciclodextrinas encontram-se a mistura a seco, mistura em soluções e suspensões, a preparação de pastas e diversas técnicas termo-mecânicas.

Para efectuar a avaliação do encapsulamento promovido pela ciclodextrina à molécula hóspede, pode-se recorrer nomeadamente a:

- Espectrofotometria de UV-Vísivel;
- Espectrofluorimetria <sup>[34]</sup>
- Ressonância magnética nuclear (RMN) <sup>[40]</sup>
- Ensaio electroquímico; <sup>[41]</sup>
- Microscopia de Força Atómica (AFM); <sup>[42]</sup>
- Microscopia de Varrimento por Efeito Túnel (STM); <sup>[42]</sup>
- Cromatografia Líquida (HPLC) com detecção por espectroscopia de massa; <sup>[33]</sup>
- Detecção do índice de refração. <sup>[33]</sup>

Tais métodos permitem a caracterização da formação do complexo, em solução, em termos de estequiometria e geometria; a interpretação de associações supra moleculares em solução aquosa; e a capacidade de fornecer informação qualitativa e quantitativa sobre os complexos formados.

#### **1.4.6 APLICAÇÕES**

Nos últimos trinta anos, a importância das ciclodextrinas aumentou exponencialmente, começando por ser no início uma curiosidade química passando depois para uma classe multi-funcional de compostos com inúmeras aplicações nas indústrias alimentares, farmacêuticas, protecção ambiental, agricultura, química analítica e indústria têxtil. <sup>[43, 27]</sup>

As ciclodextrinas têm a sua principal aplicação na indústria farmacêutica, com vista a melhorar a solubilidade de drogas moderadamente solúveis.

As ciclodextrinas têm a capacidade para estabilizar compostos contra a degradação. No entanto, estas também podem demonstrar capacidade de catalisador por forma a acelerar reacções químicas, por exemplo, reacções de hidrólise. Além disso podem ser consideradas como alguns dos mais importantes blocos de construção de estruturas supra moleculares e unidades funcionais em química supra molecular e nanotecnologias. <sup>[33]</sup>

Nas aplicações mencionadas, as ciclodextrinas podem ser usadas para estabilizar emulsões no controlo da volatilidade e potenciais aromáticos de especiarias ou podem aumentar a solubilidade de substâncias hidrofóbicas. Apresentam habilidade para modificar o sabor, aroma, a textura ou cor, aumentando o espectro de usos de diversas substâncias. <sup>[28]</sup>

## CAPÍTULO 2. PARTE EXPERIMENTAL

Durante o presente capítulo apresentar-se-ão as diversas técnicas utilizadas assim como respectivo material e equipamento para determinação da solubilidade e complexação dos dois pesticidas em estudo: MCPA e bentazona. As técnicas analíticas mais utilizadas incluem a calorimetria de varrimento diferencial (DSC – Differential Scanning Calorimetry) os ensaios electroquímicos e a espectrofotometria de UV/Vis.

### 2.1 Reagentes e solventes

Os herbicidas MCPA e bentazona foram adquiridos à Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal). A  $\beta$ -Ciclodextrina foi adquirida à Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal) e apresentava uma pureza igual a 99%. Todos os outros reagentes usados nos ensaios efectuados no decurso do trabalho laboratorial foram adquiridos à Merck (Lisboa, Portugal), eram de pureza analítica, não tendo sido submetidos a qualquer purificação adicional. A água utilizada para a preparação das soluções era de elevada pureza obtida através da filtração por filtros Millipore Milli-Q (resistividade > 18 M $\Omega$  cm).

### 2.2 Equipamento/Material

No decurso deste trabalho foram usados diversos equipamentos analíticos de diferentes proveniências.

O espectrofotómetro de UV-Vísivel era da marca Shimadzu, modelo UV-1700 PharmaSpec. A aquisição dos dados era controlada por software “UVProbe 2.10” instalado num computador ligado ao espectrofotómetro.

Para a realização das experiências electroquímicas foi usado um potencióstato/galvanóstato da marca AUTOLAB modelo PGSTAT12. Para a aquisição de dados usou-se o software *GPES* instalado num computador. Os estudos voltamétricos foram realizados utilizando uma célula electroquímica convencional de um só compartimento, contendo um eléctrodo de trabalho de carbono vítreo ( $d = 2\text{mm}$ ), um eléctrodo auxiliar de platina e um eléctrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3M).

As análises térmicas por DSC foram efectuadas num calorímetro de marca Netzsch DSC 204 com um controlador TASC 414/3A. A aquisição dos dados, foi, através de um computador anexado ao DSC, através do programa Netzsch DSC 204 Measurement versão 3.4. A introdução de gases na câmara do calorímetro é controlada por medidores de caudal da marca Netzsch. Nas análises efectuadas foram usados cadinhos de alumínio da marca Netzsch.

Para os estudos cromatográficos foi utilizado um HPLC da marca Shimadzu, equipado com um módulo de desgasificação DGU-20A 5 – Prominence Degasser, uma bomba LC-20AD e um detector de Diode-Array SPD-M20A; a coluna C18 era da marca Teknokroma Tracer Excel 120 ODSB 5µm 25x0,4; o “loop” era da marca Rheodyne e tinha uma capacidade de 20 µL. A aquisição de dados era controlada pelo software LC Solution instalado num computador anexado ao HPLC.

Os espectros de FTIR dos componentes singulares e dos sistemas binários foram obtidos num espectrofotómetro da marca Thermo Nicolet, modelo 6700 FT-IR, equipado com um sistema de reflectância da marca Smart Orbit, modelo Diamond 300000-200 cm<sup>-1</sup> também da Thermo Electron Corporation. As análises foram efectuadas por reflectância total atenuada (ATR) usando um acessório da mesma marca. A aquisição de dados era controlada pelo software OMNIC 7.3 instalado num computador anexado ao FTIR.

Para a determinação dos valores de pH utilizou-se um milivoltímetro e um eléctrodo de pH da marca Crison.

O agitador orbital usado nos ensaios de solubilidade era da marca IKA, modelo KS 4000 i control.

O evaporador rotativo (rotavapor) usado era da marca Büchi, modelo R-210. Acoplado ao rotavapor existia uma bomba de vácuo da marca Büchi, modelo V-850.

Sempre que necessário as soluções eram centrifugadas usando uma centrífuga da marca Eppendorf, modelo Centrifuge 5415D.

Na secagem dos compostos foi utilizada uma estufa da marca Binder.

Para auxiliar na dissolução dos compostos, utilizou-se um banho de ultra-sons da marca VWR USC, modelo 100TH.

Na pesagem das amostras foi usada uma balança analítica da marca Mettler, modelo AE240, com sensibilidade à centésima do miligrama.

Para a medição de volumes pequenos de solução foram usadas micropipetas de capacidade variável (100, 1000 e 5000 µL) da marca Eppendorf Research.

Para filtração das soluções foram utilizados filtros de seringa da marca Chromafil, modelo Xtra PTFE 45/25 com uma porosidade 0,45 µm.

Para trituração das substâncias foi usado um almofariz de ágata.

Todo o material de vidro, nomeadamente pipetas e balões volumétricos usados na preparação de soluções, eram de classe A ou semelhante.

## 2.3 PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS EM SOLUÇÃO

### 2.3.1 MCPA

#### 2.3.1.1 Em água

Para um balão de 50,00mL pesou-se 0,8501g de  $\beta$ -CD e perpez-se o volume com água desionizada. Levou-se esta solução ao banho de ultra-sons de modo a garantir a dissolução completa da  $\beta$ -CD estava dissolvida. Para um balão volumétrico de 25,00mL pesou-se 50,00mg de MCPA e adicionou-se 20,00mL da solução de  $\beta$ -CD preparada anteriormente. A solução assim preparada foi colocada a agitar a 25°C, a 100 rpm durante 48h. De seguida, filtrou-se a solução com um papel de filtro (G1 Whatman). O composto obtido por filtração foi colocado na estufa a 40°C durante um dia.

O sólido obtido foi caracterizado por análise térmica usando um calorímetro de varrimento diferencial (DSC, Differential Scan Calorimeter), por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).

#### 2.3.1.2 Em solução etanólica

Para um balão volumétrico de 250,0mL pesou-se 0,8497g de  $\beta$ -CD e perpez-se o restante volume com água desionizada (solução A). Num gobelé pequeno pesou-se 49,60mg de MCPA e dissolveu-se em 5,00mL de etanol, ficando este completamente dissolvido. Transferiu-se esta solução para um matraz de 250,00mL e adicionou-se 100,00mL da solução A. Seguidamente, colocou-se o matraz na incubadora a 25°C e a 100 rpm durante 48h. A solução foi filtrada com um papel de filtro, de modo a obter uma solução límpida. Evaporou-se a solução obtida num evaporador rotativo até obtenção de um sólido branco. O sólido obtido foi seco a 40°C durante 24 horas ficando na estufa, até ao dia seguinte.

O sólido obtido foi caracterizado por análise térmica usando um calorímetro de varrimento diferencial (DSC, Differential Scan Calorimeter), por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).

### 2.3.1.3 Misturas Físicas

Prepararam-se misturas físicas contendo diferentes proporções de MCPA e  $\beta$ -CD conforme se pode observar na tabela 2.1. A mistura era efectuada pesando directamente para o almofariz as quantidades apropriadas. De seguida, a mistura resultante era triturada até à obtenção de uma amostra fina homogénea. Em certos casos, adicionava-se à mistura de sólidos algumas gotas de etanol. O conteúdo do almofariz era então triturado até se obter uma mistura pastosa que era colocada no exsiccador até secagem completa.

Tabela 2.1 Misturas Físicas relativas ao MCPA

Mistura Física sem etanol	m MCPA (mg)	m $\beta$ CD (mg)	m amostra (mg)
1 MPCA:2 $\beta$ CD	3,2	51,1	2,01
Mistura Física com etanol	m MCPA (mg)	m $\beta$ CD (mg)	m amostra (mg)
1 MPCA:2 $\beta$ CD	3,2	51,1	1,90
1 MPCA:1 $\beta$ CD	9,0	51,3	2,05
2 MCPA :1 $\beta$ CD	18,9	52,3	2,02
3 MCPA :1 $\beta$ CD	27,0	54,3	2,12

Os sólidos obtidos foram caracterizados por análise térmica, usando um calorímetro de varrimento diferencial (DSC, Differential Scan Calorimeter), por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).

## 2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

### 2.4.1 Calorímetro de Varrimento Diferencial (DSC)

Os sólidos por solução aquosa, etanólica e por mistura física foram caracterizados através de ensaios calorimétricos. Todos os ensaios foram efectuados de acordo com o procedimento descrito de seguida: pesavam-se cerca de 2mg de cada sólido directamente para um cadinho de alumínio. O cadinho de seguida era tapado com uma tampa perfurada, também de alumínio. De seguida colocava-se o cadinho no calorímetro e este era aquecido, em atmosfera de azoto, a uma velocidade de 5K/min até uma temperatura máxima de 400°C. O caudal de entrada de azoto era de 20mL.min<sup>-1</sup>. Após atingida a temperatura máxima, o



cadinho era retirado do calorímetro. Os ensaios subsequentes só eram efectuados após o DSC arrefecer até uma temperatura próxima dos 25°C.

### **2.4.2 Espectroscopia de Infra-Vermelho (FTIR)**

Os complexos pesticida:β-CD foram analisados por FTIR. As análises foram efectuadas usando um sistema de Reflectância Total Atenuada (ATR) acoplado ao espectrofotómetro. A obtenção dos espectros foi realizada directamente nas amostras em pó, aplicando transformação de Fourier de 64 varrimentos, foram efectuados na região espectral de 4000 a 600 cm<sup>-1</sup>.

### **2.4.3 Ensaios de solubilidade**

Para efectuar os estudos de solubilidade efectuou-se inicialmente o traçado de uma curva de calibração. Para tal, preparou-se uma solução mãe de MCPA com uma concentração de 1x10<sup>-4</sup> mol/L. Pesou-se rigorosamente 0,0020g de MCPA e dissolveu-se em 100,00mL de água. Para garantir a dissolução completa do MCPA introduziu-se a solução num banho de ultra-sons durante 8min. Para o traçado da curva de calibração, prepararam-se soluções padrão por diluição rigorosa da solução mãe, com concentrações no intervalo entre 1 x 10<sup>-5</sup> mo/L e 6 x 10<sup>-5</sup> mo/L. Traçaram-se os espectros de UV, para todas as soluções no intervalo entre 190 e 300nm. A curva de calibração foi obtida para o comprimento de onda de 228nm, correspondente ao máximo pico de absorção do pico melhor definido.

Para os estudos da solubilidade começou-se por preparar uma solução mãe de β-CD com uma concentração 12mM. Para isso, pesou-se 1,3646g de β-CD e dissolveu-se em 100,0mL de água desionizada. De seguida prepararam-se 5 soluções contendo cada uma 50mg de MCPA e volumes crescentes de solução mãe de β-CD, perfazendo-se em seguida o volume a 25,00mL com água desionizada. Deste modo obtiveram-se soluções com concentrações em β-CD de 0, 0,96, 3,00, 6,01 e 9,02 mmol/L (tabela 2.2). Durante a realização deste estudo parte da massa de MCPA pesada permaneceu insolúvel.

Tabela 2.2 Preparação das soluções de MCPA para o estudo por UV para um volume de 25,00mL

Solução	m (g)	Concentração $\beta$ -CD (mmol/L)
A	0,0508	0
B	0,0501	0,96
C	0,0500	3,00
D	0,0499	6,01
E	0,0503	9,02

As soluções foram colocadas a agitar no agitador orbital durante cerca de uma semana (186h). Diariamente foram removidas aliquotas de cada uma das soluções em estudo que eram centrifugadas e diluídas antes de se obter o seu espectro de UV.

## 2.4.4 Estudos analíticos das soluções resultantes dos ensaios de solubilidade

### 2.4.4.1 Cromatografia Líquida (HPLC)

Para a análise das soluções obtidas no estudo da solubilidade recorreu-se também à cromatografia líquida na tentativa de diferenciar e discriminar a quantidade de MCPA relativamente ao complexo nas soluções.

As condições experimentais usadas envolveram a eluição a um fluxo variável entre 0,7 e 1mL/min sendo o comprimento de onda usado para a detecção de 228nm.

O eluente usado consistiu numa mistura de solução tampão fosfato 20 mM com pH 3 com acetonitrilo. A solução tampão fosfato foi preparada do modo seguinte: pesou-se 2,78 g de hidrogenofosfato de potássio e dissolveu-se em 800,0mL de água. De seguida acertou-se o pH a 3 unidades com ácido fosfórico concentrado. O eluente usado foi obtido por mistura de 650 mL da solução tampão fosfato com 350mL de acetonitrilo, usando diferentes percentagens da solução tampão e acetonitrilo: 65% e 35%; 32,5% e 67,5%; 50% e 50%; 12,25% e 77,25%; 39% e 61% e ainda se realizou um ensaio usando uma mistura de água:acetonitrilo numa proporção de 25:75.

No estudo por HPLC testaram-se somente três das preparadas para os ensaios de solubilidade: as soluções A, D e E (ver tabela 2.3). Estas soluções foram escolhidas por representarem os extremos das concentrações de  $\beta$ -CD usadas nos ensaios de solubilidade (soluções A e E) e a concentração intermédia (solução D). Todos os ensaios foram efectuados usando um sistema isocrático.

#### **2.4.4.2 Ensaios Electroquímicos**

Os ensaios electroquímicos foram efectuados usando um potencióstato/galvanóstato da marca AUTOLAB, modelo PGSTAT12 acoplado a uma célula de um compartimento contendo três eléctrodos: um eléctrodo de trabalho de carbono vítreo, um eléctrodo auxiliar de platina e um eléctrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3M).

Antes de cada determinação, o eléctrodo de trabalho era submetido a um tratamento mecânico, que consistia no polimento com alumina e água e em seguida só com água. Antes de cada medida voltamétrica o eléctrodo era lavado abundantemente com água desionizada. Foram realizados ensaios usando voltametria de impulso diferencial (DPV) numa escala de pH compreendido entre 1 e 12. As condições experimentais usadas foram as seguintes: potencial inicial 0,5 V, potencial final 1,5 V velocidade de varrimento 5mV/s e amplitude 50mV.

Os estudos incidiram fundamentalmente sobre as soluções A e E preparadas para os ensaios da solubilidade da pelas razões anteriormente descritas.

A sequência das medições era a seguinte: limpeza electroquímica; varrimento electroquímico do branco (10,00mL de solução tampão); adição de 1000,00 µL da solução A ou E; varrimento electroquímico da solução.

### **2.5 Estudo da Bentazona**

#### **2.5.1 Preparação dos seus complexos e sua caracterização**

##### **2.5.1.1 Em solução**

Directamente para um balão volumétrico de 250,0mL pesou-se 0,8516g de  $\beta$ -CD e perfez-se o restante volume com água desionizada (solução mãe). Num gobelé pequeno pesou-se 60,01mg de bentazona e dissolveu-se este composto em 5,00mL de etanol, ficando este completamente dissolvido. Esta solução foi transferida para um matraz de 250,00mL adicionando 100,00mL da solução mãe de ciclodextrina. Seguidamente, colocou-se o matraz na incubadora a 25°C e a 100 rpm (rotações por minuto) durante 72h. Depois, filtrou-se a solução com um papel de filtro, garantindo assim que a solução se encontrava límpida. Evaporou-se o etanol no evaporador rotativo programado para as condições do etanol, ou seja, a uma temperatura de 60°C e uma pressão de 175mbar. Após o etanol evaporado, evaporou-se a água, nas condições respectivas, ficando depositado no matraz apenas o

sólido. Raspou-se este para um vidro de relógio e colocou-se o mesmo na estufa, ficando lá até ao dia seguinte.

Caracterizou-se o sólido obtido por análise térmica, Differential Scan Calorimeter (DSC), por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

### 2.5.1.2 Misturas Físicas

Pesaram-se quantidades de bentazona e de  $\beta$ -CD, como se pode observar na tabela 2.2, originando assim uma mistura. A mistura era efectuada pesando directamente para o almofariz as quantidades apropriadas. De seguida, a mistura resultante era triturada até à obtenção de uma amostra fina homogénea. Em certos casos, adicionava-se à mistura de sólidos algumas gotas de etanol. O conteúdo do almofariz era então triturado até se obter uma mistura pastosa que era colocada no exsiccador até secagem completa.

Tabela 2.3 Misturas Físicas relativas à Bentazona por DSC

Mistura Física	m Bentazona (mg)	m $\beta$ -CD (mg)	m amostra (mg)
Bentazona com etanol	3,23	42,66	2,04
Bentazona sem etanol	3,23	42,66	1,97

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Estudo da complexação MCPA - $\beta$ -CD

#### 3.1.1. Preparação dos complexos

O complexo MCPA- $\beta$ -CD foi preparado em solução (aquosa e etanólica) e usando o método das misturas sólidas em diferentes proporções estequiométricas. Os sólidos obtidos, todos de cor branca, foram estudados em termos de solubilidade, usando o método de Higuchi e Connors.<sup>[39]</sup> Os complexos obtidos foram caracterizados usando diferentes técnicas analíticas, nomeadamente UV, FTIR, HPLC, electroquímica e análise térmica.

#### 3.1.2 Caracterização dos complexos

A análise térmica do herbicida e do complexo foi realizada por DSC, obtendo-se os termogramas não só das substâncias originais, ou seja, MCPA e  $\beta$ -CD como também da mistura em solução.

Na figura 3.1, são apresentados os termogramas obtidos para o MCPA,  $\beta$ -CD e o complexo.

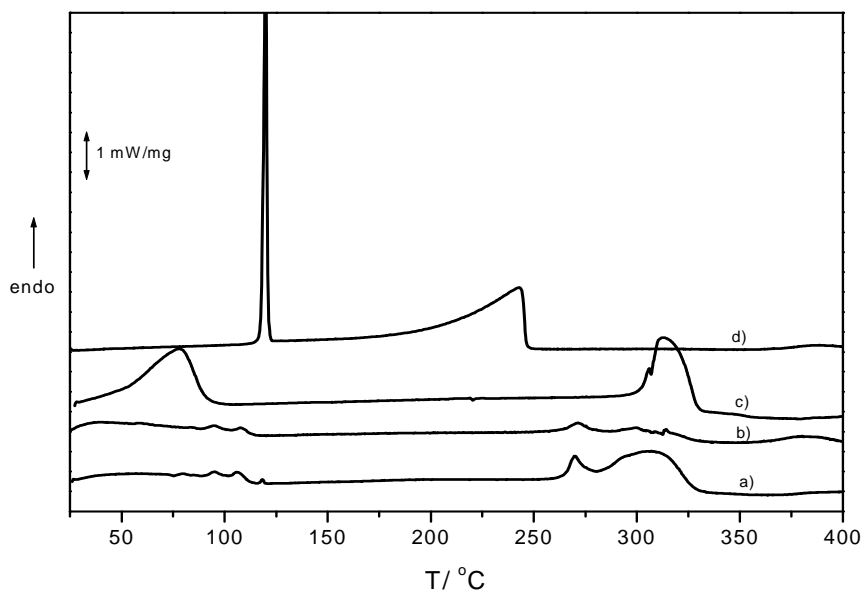


Figura 3.1 – Análise por DSC em atmosfera de azoto: a) Complexo formado em água, b) complexo formado em solução etanólica, c)  $\beta$ -CD e d) MCPA.

A análise térmica do MCPA originou um termograma onde é possível observar dois picos endotérmicos que ocorrem a 119,8°C e a 242,7°C. O fluxo de calor observado a 119,8°C é característico da fusão do MCPA. A temperatura de fusão descrita na literatura para este composto está entre 114-119 °C. [47]

O termograma obtido para a  $\beta$ -CD apresenta igualmente dois fluxos endotérmicos, a 77,7°C e a 311,9°C. O primeiro pico deverá corresponder à desidratação da  $\beta$ -CD enquanto que o segundo poderá representar a degradação desta.

A análise térmica do complexo preparado em solução aquosa evidencia a ocorrência, ainda que residual, de um pico do MCPA a 118,3°C apresentando deste modo a existência de MCPA livre. Surge também um pico a 270,0°C que poderá ser eventualmente a degradação do possível complexo formado e a 307,1°C ocorre a degradação da  $\beta$ -CD. Através do termograma do complexo formado em solução etanólica é possível visualizar que não há MCPA livre, uma vez que não ocorre o aparecimento do fluxo de calor característico da fusão do herbicida bem como também não visível a degradação da  $\beta$ -CD, existindo assim um encapsulamento efectivo.

Dos resultados obtidos é possível concluir que a complexação em solução não ocorre completamente, ao contrário do que acontece com a complexação em etanol. De facto, neste caso não é observável qualquer pico a 119,8°C, característico da fusão do MCPA.

Da mesma forma, realizaram-se estudos para a caracterização por DSC das misturas físicas obtidas usando diferentes proporções de MCPA relativamente à  $\beta$ -CD.

Inicialmente efectuou-se o estudo térmico dos complexos obtidos por mistura física dos sólidos sem adição de etanol. Em qualquer das misturas testadas, verificava-se sempre a ocorrência de um pico endotérmico característico da existência de MCPA livre. Os resultados mostraram que esta técnica de preparação dos complexos não era adequada para a obtenção dos complexos.

O ensaio térmico dos complexos preparados por mistura física, na presença de etanol, originou resultados significativamente diferentes. Seguidamente, são apresentados os termogramas referentes às diferentes misturas físicas testadas.

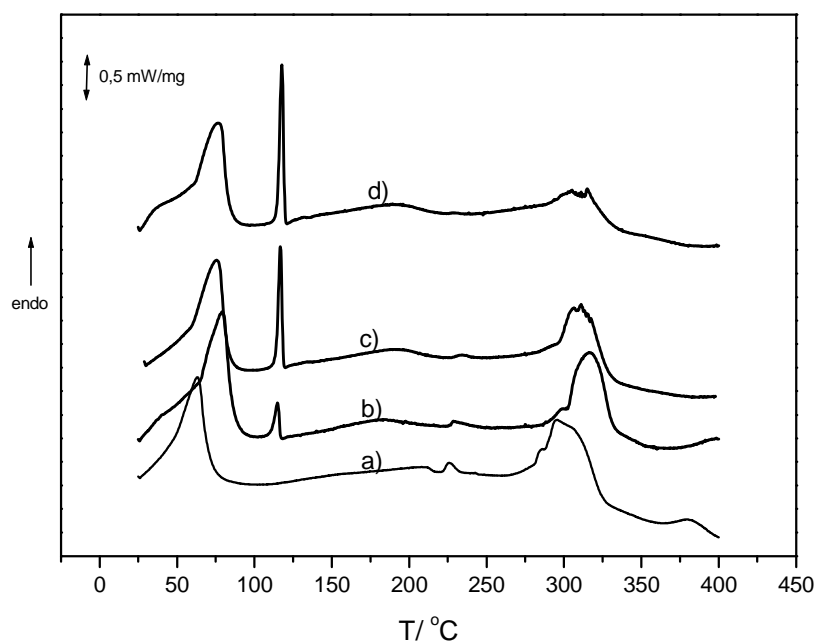


Figura 3.2 Análise por DSC em atmosfera de azoto das misturas físicas em diferentes proporções estequiométricas: a) 1MCPA:2  $\beta$ -CD, b) 1MCPA:1  $\beta$ -CD, c) 2MCPA:1  $\beta$ -CD e d) 3MCPA:1  $\beta$ -CD.

Como se pode observar, com excepção da mistura 1MCPA:2  $\beta$ -CD (Figura 3.2), todas as misturas físicas contendo proporções crescentes de MCPA relativamente a  $\beta$ -CD apresentam o pico a 117,7°C. Como seria de esperar, este pico é tanto mais evidente quanto maior é a proporção de MCPA face à  $\beta$ -CD. Pelo contrário verifica-se como era de espectável, e menor a banda de  $\beta$ -CD representada no fim do termograma.

Quanto ao termograma a), não existe qualquer pico de MCPA uma vez que ele se encontra todo encapsulado face à proporção de MCPA relativamente à  $\beta$ -CD.

Como se pode observar na tabela 3.1, à medida que as proporções estequiométricas aumentam, também o mesmo acontece com os  $\Delta H$  do evento térmico à temperatura de 117,7°C.

# REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES

Tabela 3.1 - Resultados obtidos para cálculo da razão estequiométrica do MCPA e  $\beta$ -CD no complexo

MCPA (mol)	$\beta$ -CD (mol)	Razão	$\Delta H$ amostra (J/g)	m pesada MCPA (g)	m pesada $\beta$ -CD (g)	ni MCPA (mol)	n $\beta$ -CD (g)	R calc.	nf MCPA (mol)	(ni-nf)/n
1	1	1	18,18	0,009	5,13E-02	4,49E-05	4,52E-05	0,992537	2,42E-05	0,457
2	1	2	45,35	0,0189	5,23E-02	9,42E-05	4,61E-05	2,044475	7,12E-05	0,498
3	1	3	63,46	0,027	5,43E-02	1,35E-04	4,78E-05	2,813103	1,14E-04	0,434

ni - Número de moles iniciais de MCPA livre

nf - Número de moles finais de MCPA livre

(ni-nf)/nf – Razão de MCPA encapsulado na  $\beta$ -CD



Os cálculos foram efectuados tendo em conta que  $\Delta H$  MCPA era de 225,9J/g, Massa Molecular (MCPA) igual a 200,62g/mol e Massa Molecular ( $\beta$ -CD) igual a 1135g/mol, onde  $n_i$  representa o número de moles iniciais de MCPA livre,  $n_f$  número de moles finais de MCPA livre e  $(n_i - n_f)/n$  representa a razão de MCPA encapsulado na  $\beta$ -CD.

Pelos cálculos realizados, tabela 3.1, verifica-se que razão estequiométrica MCPA: $\beta$ -CD no complexo é de 0,5 ou seja 1 mole de moléculas de MCPA para 2 moles de moléculas de  $\beta$ -CD.

Na figura 3.3 apresenta-se uma comparação dos DSC referentes à preparação do complexo MCPA:  $\beta$ -CD em solução e através de mistura física.

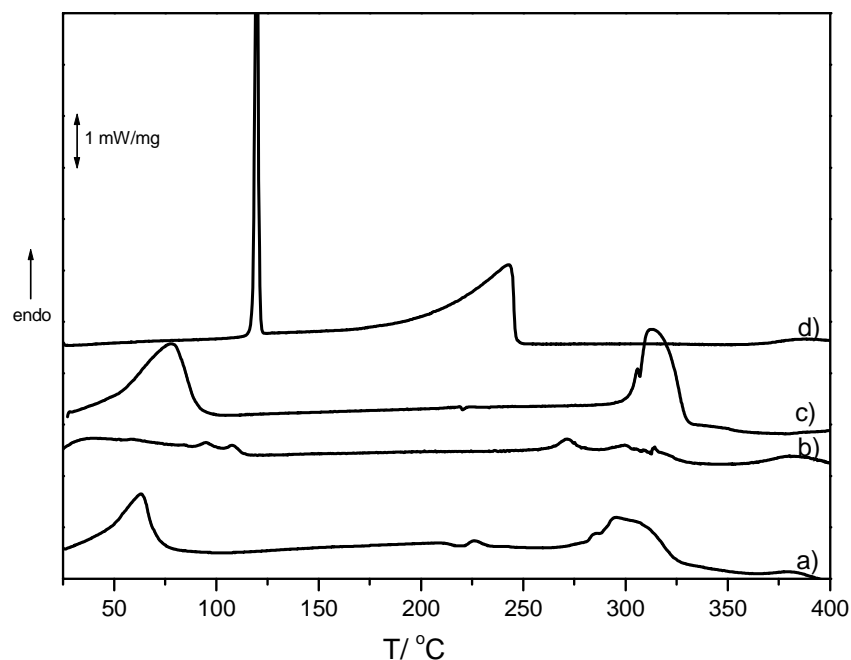


Figura 3.3 – Análise por DSC em atmosfera de azoto; a) Complexo formado em mistura física 1MCPA:2  $\beta$ -CD, b) complexo formado em solução etanólica, c)  $\beta$ -CD e d) MCPA.

Da figura é possível constatar que o comportamento térmico do complexo formado em solução etanólica e por mistura física apresenta algumas diferenças, nomeadamente o desaparecimento dos picos relativos à  $\beta$ -CD no termograma relativo ao complexo formado em solução. A disparidade observada poderá ser o resultado dos mecanismos de formação de complexo de inclusão pelos dois métodos de preparação serem diferentes. <sup>[49]</sup>

### 3.1.2.1 Análise por FTIR dos complexos

De modo a caracterizar o complexo MCPA: $\beta$ -CD obtido, efectuou-se o estudo do herbicida, da  $\beta$ -CD e do complexo obtido pelos diferentes métodos por espectroscopia de infravermelho. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na figura 3.4.

A figura 3.4, parece evidenciar que no intervalo entre os 1500-2000  $\text{cm}^{-1}$  se observam bandas distintas para o pesticida e o complexo. De facto, ocorre um deslocamento da banda a 1695  $\text{cm}^{-1}$  do complexo face à banda a 1734  $\text{cm}^{-1}$  do MCPA e é visível o desaparecimento da segunda banda do pesticida no espectro do complexo.

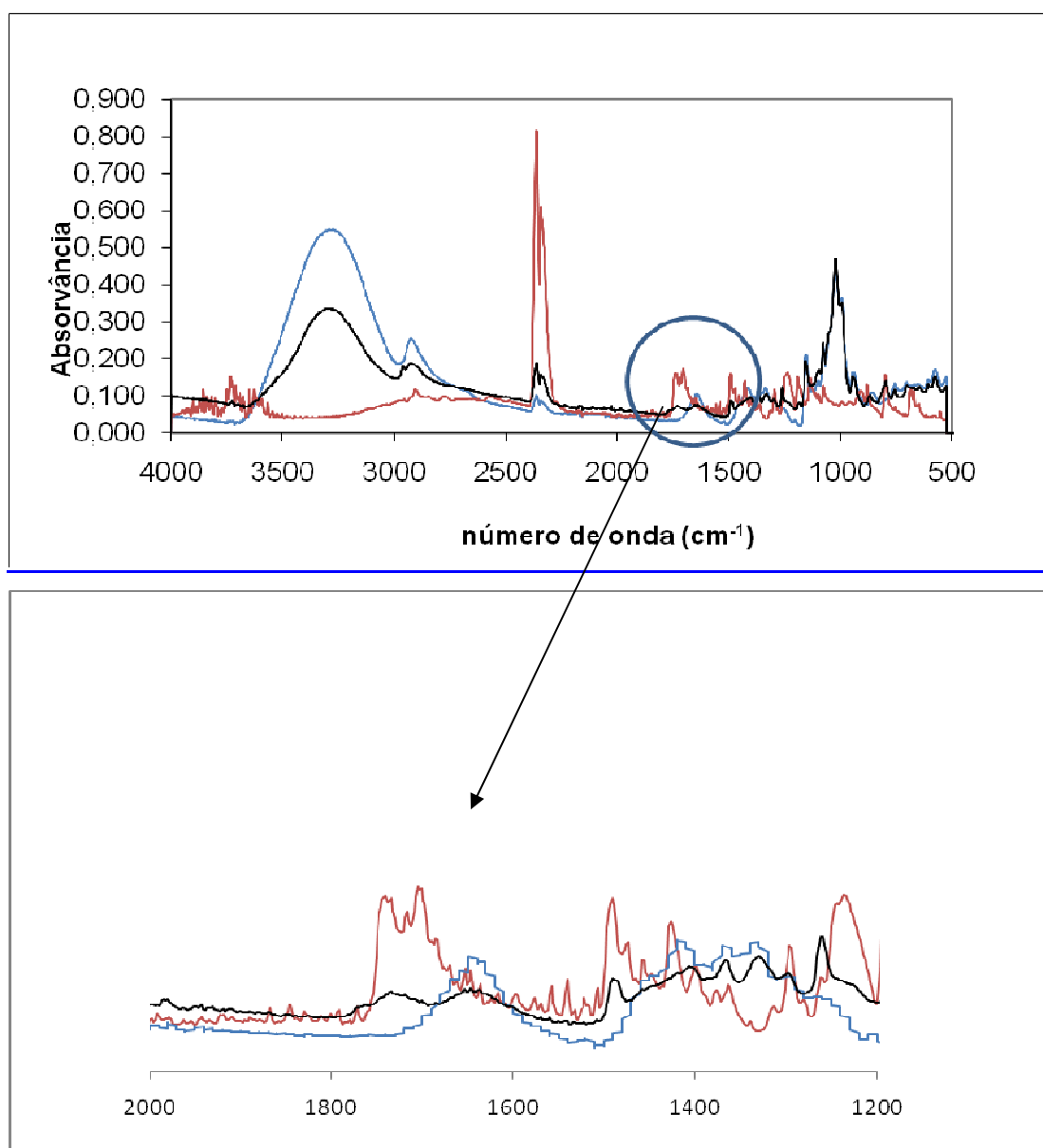


Figura 3.4 – Análise por FTIR e sua expansão do — MCPA —  $\beta$ -CD — Complexo formado em solução etanólica.

As diferenças observadas nos espectros de IV para o MCPA e para o complexo parecem apontar para que o MCPA tenha encapsulado na sua totalidade. De facto o desaparecimento no espectro do complexo da banda do grupo carbonilo do MCPA (que ocorre a  $1697\text{ cm}^{-1}$ ) parece evidenciar este facto. Os resultados obtidos reforçam as conclusões obtidas anteriormente usando DSC.

Realizou-se a análise por FTIR do sólido obtido por mistura física com a proporção estequiométrica de 1 MCPA para 2  $\beta$ -CD, sendo esta a única proporção para a qual o MCPA encapsulou na totalidade. O espectro é apresentado na figura 3.5.

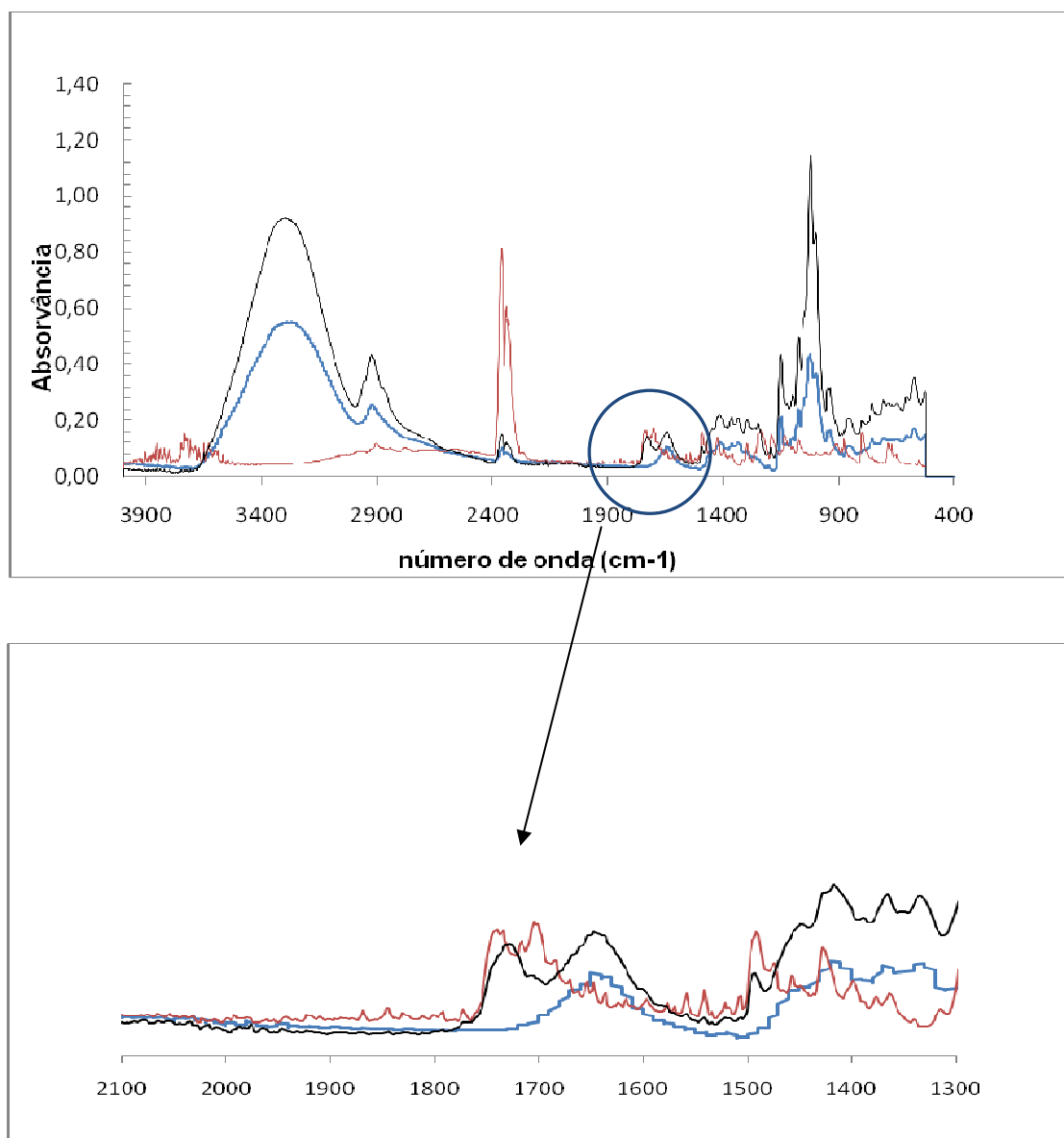


Figura 3.5 – Análise por FTIR e sua expansão do — MCPA —  $\beta$ -CD — Mistura Física 1 MCPA – 2  $\beta$ CD.

De acordo com os espectros, é possível constatar que a  $1734\text{cm}^{-1}$  e a  $1697\text{cm}^{-1}$  aparecem duas bandas para o MCPA e relativamente ao espectro da mistura física aparece uma banda a  $1722\text{cm}^{-1}$  representando desse modo um deslocamento face à primeira banda do MCPA. Ocorre também o desaparecimento da segunda banda do MCPA em ambos os casos, ou seja, tanto no espectro do complexo formado em solução etanólica como no da mistura física de 1 MCPA: 2  $\beta$ -CD. Comparando-se o espectro de IV do complexo formado em solução relativamente ao espectro do complexo formado por mistura física observa-se que são muito semelhantes.

Realizou-se a análise por IV de uma outra mistura física, agora com a proporção de MCPA e  $\beta$ -CD 3:1 respectivamente, que é apresentado na figura 3.6.

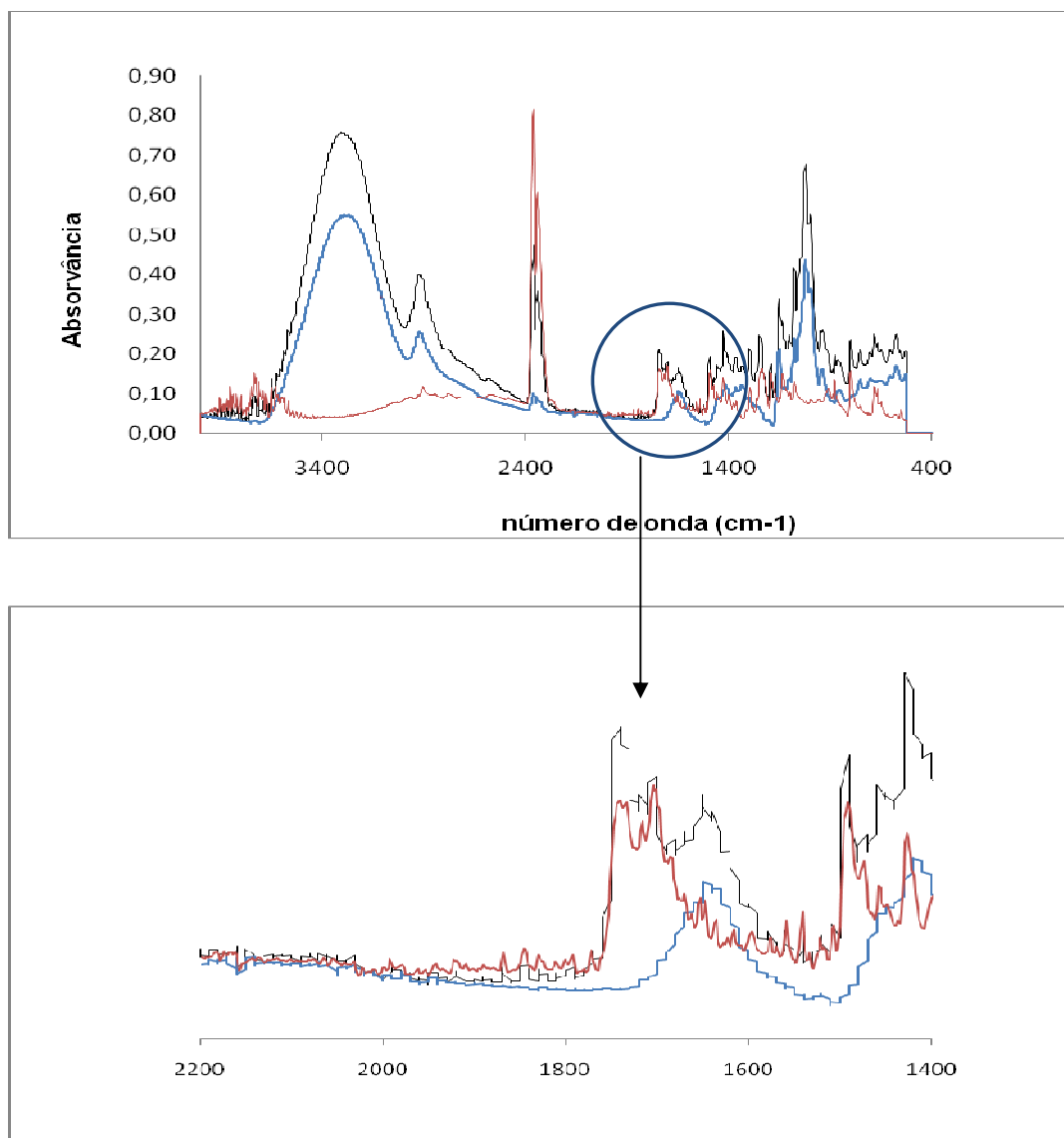


Figura 3.6 – Análise por FTIR do — MCPA —  $\beta$ -CD — Mistura Física 3 MCPA – 1  $\beta$ -CD e sua expansão.

Tendo em conta o espectro do MCPA e o espectro do complexo, é possível visualizar agora um desdobramento dos picos por parte do complexo, tendo o mesmo comportamento que o MCPA, o que faz sentido uma vez que com estas proporções estequiométricas existe MCPA livre.

### 3.1.3 Ensaios de Solubilidade do MCPA e do complexo

Tendo como objectivo o estudo do equilíbrio dinâmico assim como a análise da solubilidade do complexo formado relativamente à solubilidade do MCPA livre, efectuaram-se ensaios de solubilidade de acordo com o método descrito por Higuchi e Connors.<sup>[39]</sup> Assim, efectuou-se o estudo, por espectrofotometria de UV-Vis, do comportamento ao longo do tempo de soluções saturadas. Os espectros foram traçados no intervalo entre 190 e 300nm à temperatura ambiente.

Começou-se por traçar a curva de calibração Abs vs Conc de MCPA entre 190 e 300nm sendo a relação linear de Abs vs Conc de MCPA representada pela equação da recta de declive  $8,00 \times 10^{-5}$  e ordenada na origem  $-3 \times 10^{-7}$ . O coeficiente de correlação obtido foi de 0,999 (Figura 3.7).

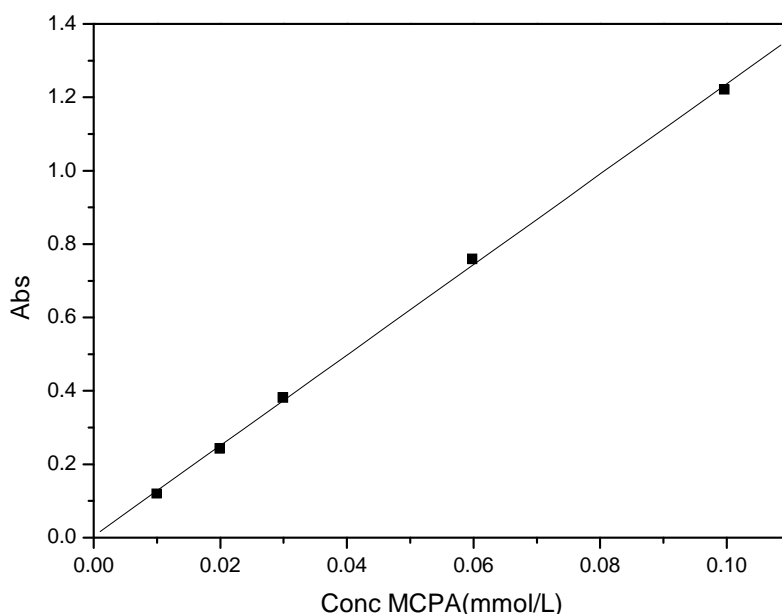


Figura 3.7 – Curva de calibração Abs vs Conc do MCPA.

Representou-se graficamente a Abs a 228nm (correspondente ao máximo de absorção do pico melhor definido) em função da concentração para valores compreendidos entre  $9.96 \times 10^{-6}$  a  $9.96 \times 10^{-5}$  mol/L (Figura 3.8).

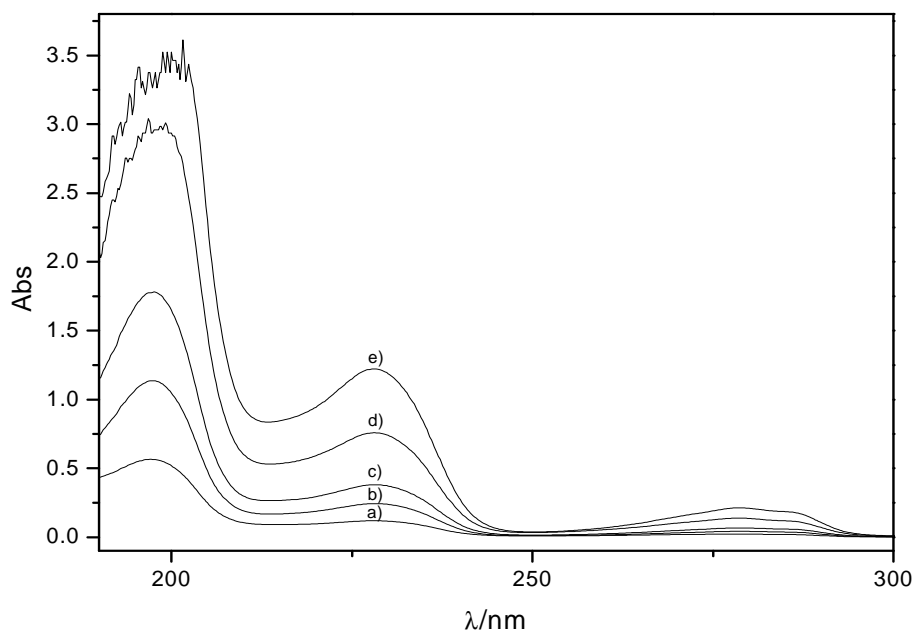


Figura 3.8 - Espectros de UV para soluções padrão de MCPA com concentrações: a)  $9,96 \times 10^{-6}$  mol/L, b)  $1,99 \times 10^{-5}$  mol/L, c)  $2,99 \times 10^{-5}$  mol/L, d)  $5,98 \times 10^{-5}$  mol/L e e)  $9,96 \times 10^{-5}$  mol/L.

Traçaram-se os espectros de UV das soluções A a E, em que a solução A não contém β-CD (ver capítulo 2 – tabela 2.2) e as restantes soluções contêm quantidades crescentes de β-CD com diferentes tempos uma vez que estiveram cerca de uma semana no agitador orbital a 25 °C. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 3.2. As concentrações das soluções A a E evidenciadas na tabela 3.2, seguidamente apresentada, foram obtidas por substituição na curva de calibração através das absorvâncias.

Tabela 3.2 – Estudo da solubilidade de MCPA com concentrações crescentes de  $\beta$ -CD por Espectrofotometria de UV/Vis

Horas (h)	Soluções	$\beta$ CD (mM)	Absorvância (nm)	Concentração soluções (mol/L)
0	A	0	0,139	1,09E-05
	B	1	0,221	1,76E-05
	C	3	0,282	2,25E-05
	D	6	0,317	2,54E-05
	E	9	0,386	3,10E-05
19	A	0	0,368	2,95E-05
	B	1	0,382	3,06E-05
	C	3	0,458	3,68E-05
	D	6	0,58	4,67E-05
	E	9	0,695	5,60E-05
67	A	0	0,343	2,75E-05
	B	1	0,385	3,09E-05
	C	3	0,454	3,65E-05
	D	6	0,563	4,53E-05
	E	9	0,677	5,46E-05
92	A	0	0,351	2,81E-05
	B	1	0,370	2,97E-05
	C	3	0,421	3,38E-05
	D	6	0,531	4,27E-05
	E	9	0,677	5,46E-05
114	A	0	0,360	2,88E-05
	B	1	0,384	3,08E-05
	C	3	0,464	3,73E-05
	D	6	0,578	4,65E-05
	E	9	0,661	5,33E-05
162	A	0	0,364	2,92E-05
	B	1	0,395	3,17E-05
	C	3	0,456	3,66E-05
	D	6	0,545	4,39E-05
	E	9	0,701	5,65E-05
186	A	0	0,382	3,06E-05
	B	1	0,408	3,27E-05
	C	3	0,453	3,64E-05
	D	6	0,543	4,37E-05
	E	9	0,694	5,60E-05

Nas figuras 3.11 e 3.12 apresentam-se como exemplo os espectros das soluções logo após preparação (tempo 0) e às 67 horas de agitação.

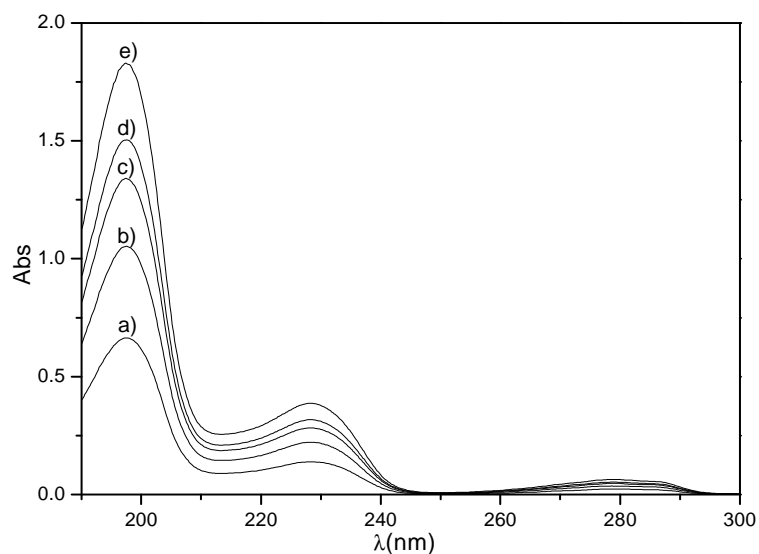


Figura 3.9 – Espectro das soluções de A ( $1,09\text{E-}05$  mol/L), B ( $1,76\text{E-}05$  mol/L), C ( $2,25\text{E-}05$  mol/L), D ( $2,54\text{E-}05$  mol/L) e E ( $3,10\text{E-}05$  mol/L) às 0h.

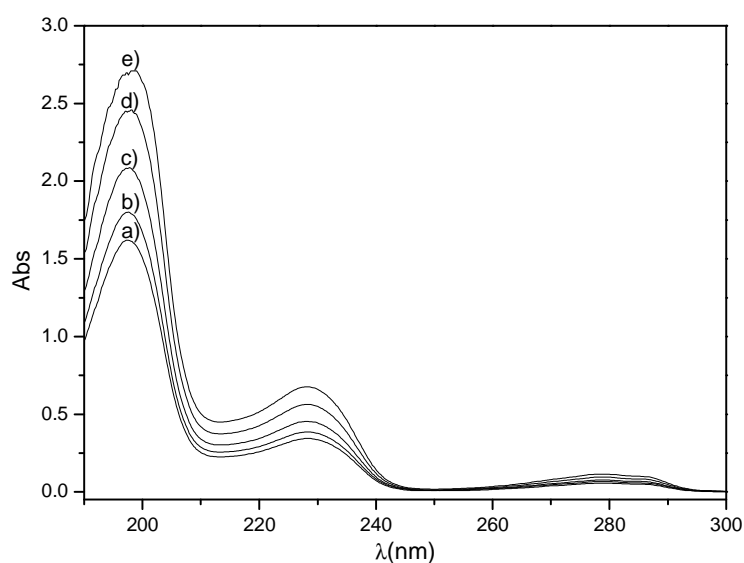


Figura 3.10 – Espectro das soluções de A ( $2,75\text{E-}05$  mol/L), B ( $3,09\text{E-}05$  mol/L), C ( $3,65\text{E-}05$  mol/L), D ( $4,53\text{E-}05$  mol/L) e E ( $5,46\text{E-}05$  mol/L) às 67h.

Os resultados obtidos permitiram concluir que o equilíbrio dinâmico foi atingido a partir das 19h. De facto não foi observada qualquer variação significativa nos espectros de absorvância de todas as soluções a partir desta hora até ao final do período de leituras, ou seja, até às 186h. Convém realçar igualmente que não foi verificada qualquer variação ou



deslocamento dos espectros entre a solução inicial, que não continha  $\beta$ -CD, e as restantes soluções.

De acordo com Higuchi e Connors <sup>[39]</sup> neste tipo de estudos é de prever a possibilidade de obtenção de dois tipos de diagramas de fase: os do tipo A onde há um crescimento de solubilidade do substrato (neste caso MCPA) devido à presença de um agente de complexação ( $\beta$ -CD), e os do tipo B em que inicialmente apresenta o mesmo comportamento do tipo A mas depois de ser atingido o limite de solubilidade do complexo a adição de um outro agente de complexação resulta na formação de mais complexo que acaba por precipitar.

Dentro do tipo A existem três representações gráficas diferentes. A linha que retrata um crescimento linear de solubilidade, a linha com uma curvatura positiva e a linha que representa uma curvatura negativa. No presente trabalho, e como se pode ver no gráfico seguinte, trata-se do primeiro caso, ou seja, um crescimento linear de solubilidade. Observa-se ainda que a solubilidade do complexo relativamente ao MCPA é superior cerca de duas vezes.

Para o traçado da curva de solubilidade representou-se graficamente Concentração de MCPA vs Concentração da  $\beta$ -CD (Figura 3.11).

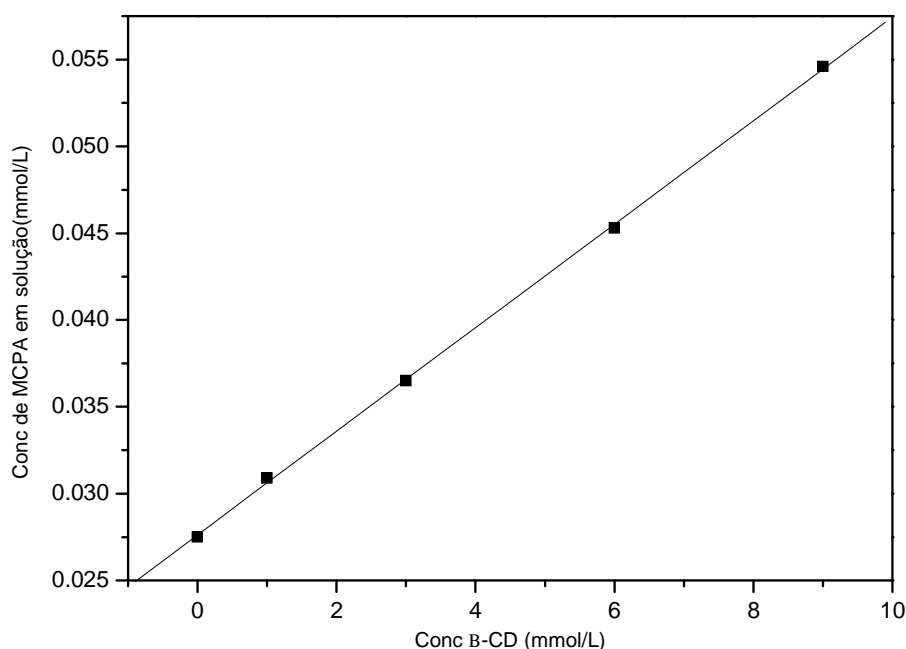


Figura 3.11 – Diagrama de fase de crescimento linear de solubilidade das soluções A ( $2,75 \times 10^{-5}$  mol/L), B ( $3,09 \times 10^{-5}$  mol/L), C ( $3,65 \times 10^{-5}$  mol/L), D ( $4,53 \times 10^{-5}$  mol/L) e E ( $5,46 \times 10^{-5}$  mol/L) às 67h.

Se o declive da recta linear for superior à unidade, pelo menos uma das espécies tem de estar presente sendo obviamente impossível para uma mole do complexo ter mais do que uma mole do substrato em solução se o complexo é do tipo 1:1. Por outro lado, um declive menor que a unidade, como é o caso (tabela 3.3), com um diagrama do tipo A característico de um crescimento linear não quer necessariamente dizer que apenas um complexo 1:1 é formado, podendo-se formar complexos noutras proporções estequiométricas. <sup>[39]</sup>

A constante de estabilidade para cada complexo (K) foi calculada a partir da inclinação da porção linear da curva, de acordo com a seguinte equação: <sup>[39]</sup>

$$K = \text{declive} / S_0 * (1 - \text{declive})$$

onde  $S_0$  é a solubilidade da solução na ausência de  $\beta$ -CD

Tabela 3.3 – Constante de estabilidade a diferentes horas

Horas	$S_0$	m	K
0	1,09E-05	2,00E-03	-
19	2,95E-05	3,00E-03	102
67	2,75E-05	3,00E-03	109,4
92	2,81E-05	2,90E-03	103,5
114	2,88E-05	2,80E-03	97,5
162	2,92E-05	2,90E-03	99,6

Analisando as tabelas 3.2 e 3.3 e as constantes de estabilidade (K), pode-se dizer que a partir da 19h observa-se um equilíbrio dinâmico, onde se obteve uma constante de estabilidade média de 102,4.

### 3.1.4 Estudos analíticos das soluções resultantes dos ensaios de solubilidade

#### 3.1.4.1 HPLC

Com o objectivo de observar por HPLC se era possível discriminar a separação dos picos correspondentes ao MCPA livre e ao complexo MCPA- $\beta$ -CD, efectuou-se um estudo pelo método uni-variante das condições de ensaio cromatográficas, nomeadamente a composição e o caudal do eluente. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 3.4.

Inicialmente, testou-se como eluente uma solução com composição 65% de solução tampão fosfato e 35% de acetonitrilo, e um caudal igual a 0,80mL/min. A injeção das soluções A (solução só com MCPA), D e E (soluções com complexo mas quantidades diferentes de  $\beta$ -

CD) deu origem, em qualquer dos casos, a um só pico cromatográfico com tempo de retenção de 18,26min (figuras 3.12 e 3.13).

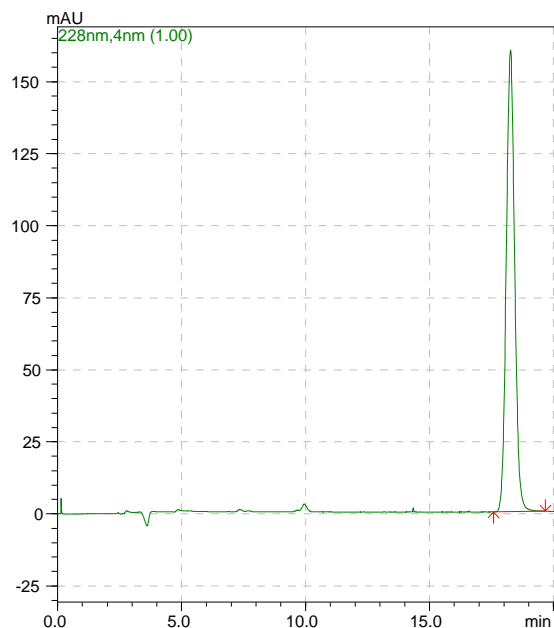


Figura 3.12 - Cromatograma da solução A (solução saturada em MCPA 0,05g/25 mL).

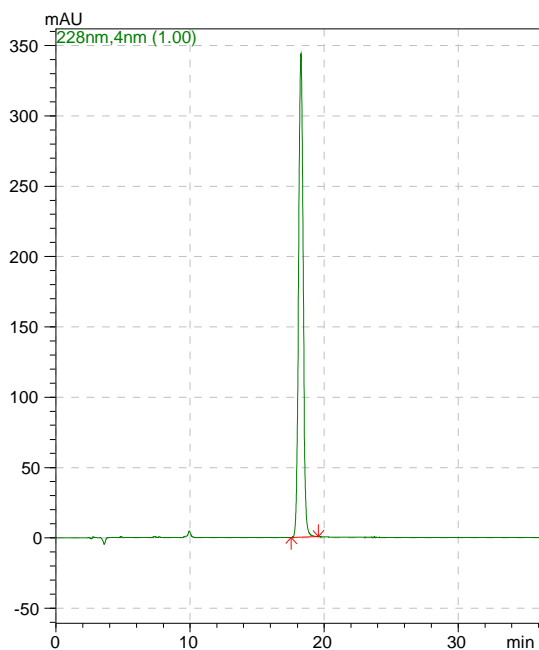


Figura 3.13 - Cromatograma da solução E (solução saturada em MCPA 0,05g/25 mL contendo a máxima quantidade relativa de ciclodextrina, 9 mmol/L).

Foram igualmente estudados outros eluentes com diferentes composições e caudais. Na tabela 3.4 encontram-se resumidos os resultados encontrados durante esses estudos. Em todas as condições de ensaio estudadas obteve-se um único pico cromatográfico com tempos de retenção muito idênticos, tanto para o MCPA como para o complexo MCPA:β-CD

(tabela 3.4). Tal facto poderá ser justificado pelo facto de o MCPA e o complexo apresentarem, nas condições estudadas, propriedades físico-químicas muito semelhantes.

Os resultados obtidos relativamente às soluções A, D e E estão resumidos na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Estudo do comportamento das soluções A, D e E por HPLC para diferentes eluentes e caudais

Eluente		Solução	t <sub>r</sub> (min.)	Altura (mAU)	Q (mL/min)
Tampão (%)	Acetonitrilo (%)				
65,00	35,00	A1	18,26	160,06	0,8
		E1	18,27	343,92	
32,50	67,50	A2	4,52	369,62	0,8
		E21	4,54	754,63	
		E22	6,02	147,71	
32,50	67,50	A3	3,75	-	1,0
		E3	3,64	756,46	
50,00	50,00	A4	3,89	224,23	0,8
		E4	3,84	325,88	
25,00	75,00	E5	3,47	335,72	0,8
12,25	77,25	E6	3,97	554,87	0,8
12,25	77,25	E61	3,21	558,59	1,0
		E62	4,62	562,27	0,7
39,00	61,00	E7	5,23	527,57	0,8
		D7	5,21	416,70	

De acordo com a tabela anteriormente apresentada, constata-se que as áreas dos picos cromatográficos da solução E (solução com maior quantidade de complexo em solução) são sempre maiores relativamente à solução A que apenas contém o pesticida. Tal facto deve-se a que quanto maior for a quantidade de complexo maior a quantidade de MCPA em solução e uma vez que a solubilidade do complexo é superior à solubilidade do MCPA, obtém-se desse modo uma maior altura. De salientar ainda que para o último ensaio é possível observar uma maior área para a solução E quando comparada com a solução D

pela óbvia razão que a solução E tem uma maior quantidade de complexo e consequentemente MCPA em solução.

### 3.1.4.2 Ensaios Electroquímicos

Com o objectivo de estudar o comportamento redox do MCPA e do complexo MCPA- $\beta$ -CD procedeu-se ao estudo electroquímico destes compostos num intervalo de valores de pH compreendido entre 1,19 e 12,07 unidades, por voltametria de impulso diferencial (DPV) usando um eléctrodo de carbono vítreo.

Este estudo foi efectuado para a solução A (solução saturada em MCPA 0,05g/25 mL) e para a solução E, solução esta para além solução saturada em MCPA contém a máxima quantidade relativa de ciclodextrina (9 mmol/L). Ambas as soluções foram analisadas por DPV após 186 h de agitação orbital à temperatura ambiente.

Na figura 3.14 estão representados os voltamogramas obtidos para a solução A (só contendo MCPA) nos diferentes electrólitos, observando-se o mesmo comportamento redox, para o complexo, em toda a escala de pH estudada.

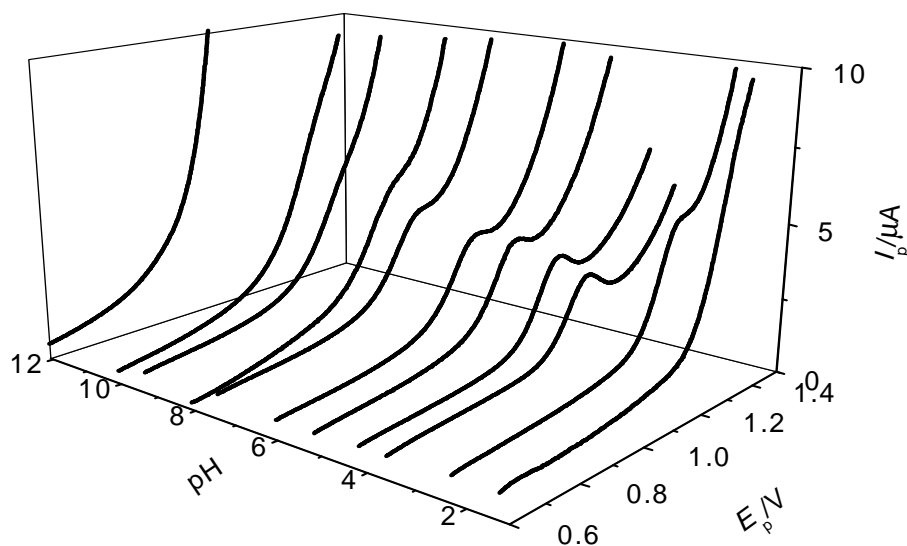


Figura 3.14 - Voltamogramas obtidos para uma solução de MCPA de concentração  $10^{-4}$  mol/L por voltametria de impulso diferencial. Velocidade de varrimento 5 mV/s.

O MCPA apresenta a partir de um pH de 2 unidades um pico anódico bem definido com uma  $E_p = 1.2$  V sendo a intensidade do pico crescente até um pH de 4,17 unidades. A partir deste valor, há um decrescimento da intensidade do pico

Os resultados obtidos, da variação do potencial de pico ( $E_p$ ) e intensidade do pico ( $I_p$ ) com os valores de pH relativamente à solução (A) e à solução (E), encontram-se representados nas tabelas 3.5 e 3.6 respectivamente.

Tabela 3.5 – Estudo do comportamento do MCPA por voltametria de impulso diferencial em diferentes electrólitos

pH	$E_p$ . (V)	$I_p$ . ( $\mu$ A)
1,19	1,264	9,40E-07
2,05	1,233	1,27E-06
3,59	1,184	1,18E-06
4,17	1,164	1,35E-06
5,14	1,163	1,24E-06
6,02	1,158	1,04E-06
7,42	1,154	9,10E-07
8,09	1,155	7,90E-07
9,31	1,157	3,74E-07
10,05	1,16	4,23E-07
11,1	1,175	9,77E-10

Tabela 3.6 – Estudo do comportamento da solução E em voltametria de impulso diferencial para diferentes electrólitos

pH	$E_p$ . (V)	$I_p$ . ( $\mu$ A)
1,19	1,268	6,48E-07
2,05	1,226	1,26E-06
3,59	1,171	1,26E-06
4,17	1,165	1,37E-06
5,14	1,16	1,20E-06
6,02	1,148	1,22E-06
7,42	1,156	8,44E-07
8,09	1,156	6,35E-07
9,31	1,149	1,80E-07
10,05	1,159	3,96E-07
11,1	1,203	1,27E-09

No gráfico de  $E_p$  vs pH da solução de MCPA (solução A), figura 3.15, observa-se que até um pH de 4,5 existe uma relação linear, demonstrando assim uma dependência do processo de oxidação relativamente ao pH. Para pHs superiores a 4,5, o processo de oxidação é independente do pH.

Na relação  $I_p$  vs pH obtém-se uma máxima corrente para um pH de 4,17 unidades. Este é o pH ideal porque com um pH mais baixo, pequenas diferenças de pH têm uma larga influência sobre o pico, enquanto que com um pH mais elevado obtém-se uma menor corrente.

Os resultados obtidos, encontram-se representados graficamente na figura seguinte onde estão abordadas as relações  $E_p$  vs pH e  $I_p$  vs pH relativamente à solução A (Figura 3.15)

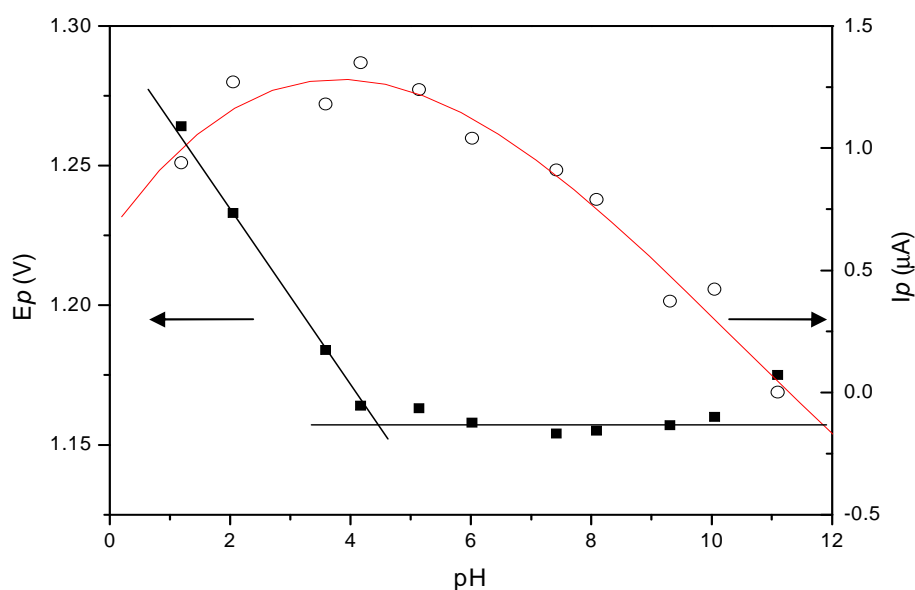


Figura 3.15 – Análise do potencial ( $E_p$ ) e da altura ( $I_p$ ) do composto MCPA em função do pH.

Observou-se o mesmo comportamento electroquímico para a solução de complexo (solução E) como se pode constatar na figura 3.16.

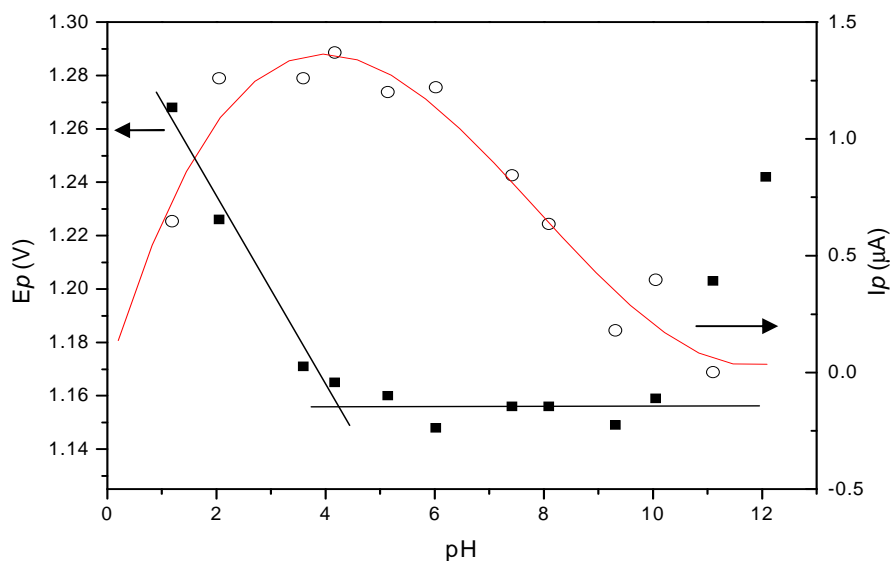


Figura 3.16 – Análise do potencial ( $E_p$ ) e da altura ( $I_p$ ) do complexo em função do pH.

Os resultados obtidos não permitiram obter sinais electroquímicos distintos para o MCPA e o complexo MCPA- $\beta$ CD. Uma vez que os comportamentos electroquímicos são muito semelhantes, não é possível diferenciar a existência destas substâncias quando estas se encontram em mistura.

## 3.2 Bentazona

### 3.2.1 Caracterização dos complexos formados

Tal como o MCPA, também se realizou o estudo por DSC referente à bentazona. Para isso, realizaram-se termogramas da própria bentazona,  $\beta$ -CD e da mistura em solução com etanol.

Seguidamente, é apresentado o termograma onde é possível observar as diferenças entre a bentazona e o complexo.



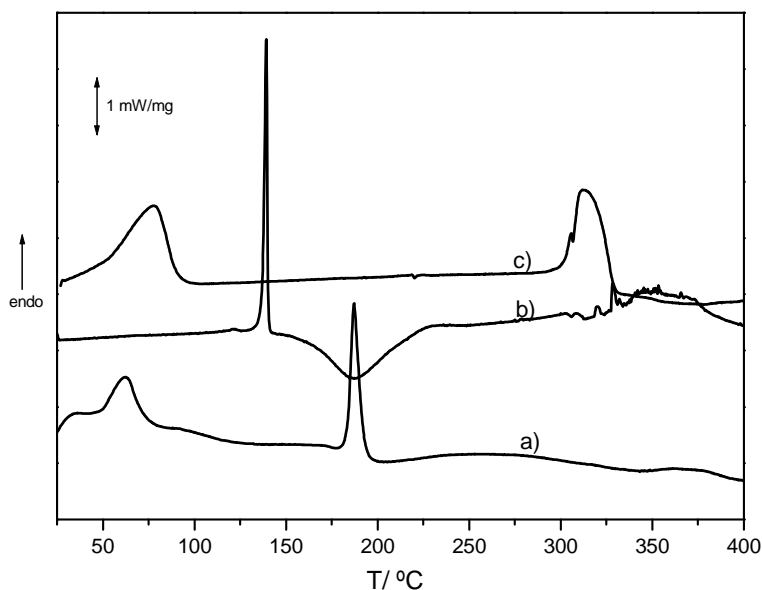


Figura 3.17 – Análise por DSC em atmosfera de azoto; a) complexo formado em solução etanólica, b) Bentazona e c)  $\beta$ -CD.

A análise térmica da bentazona originou um termograma onde é possível observar um pico endotérmico que ocorre a 139,2°C e um pico exotérmico a 188,1°C que deverá corresponder à degradação da bentazona. O fluxo de calor observado a 139,2°C é característico da fusão do bentazona. A temperatura de fusão descrita na literatura para este composto está entre 137-139 °C. <sup>[50]</sup>

O termograma obtido para a  $\beta$ -CD apresenta igualmente dois fluxos endotérmicos, a 77,7°C e a 311,9°C. O primeiro pico deverá corresponder à desidratação da  $\beta$ -CD enquanto que o segundo poderá representar a degradação desta.

Relativamente ao complexo formado em solução etanólica é possível observar dois fluxos endotérmicos sendo o primeiro característico da  $\beta$ -CD a 62,3°C e o segundo a 187,1°C. De acordo com Szejtli, a inclusão de uma molécula hóspede na cavidade da ciclodextrina ou na rede cristalina, leva a que os seus pontos de fusão, de ebulição, de sublimação ou de degradação sejam deslocados para uma temperatura mais elevada ou não se observem até à temperatura limite de decomposição da ciclodextrina (250-300°C). Assim sendo, o segundo fluxo endotérmico a 187,1°C poder-se-á dever à fusão do complexo formado. <sup>[51]</sup>

Tendo em conta os termogramas individuais da bentazona e  $\beta$ -CD e o termograma do composto obtido em solução etanólica, pode-se constatar a ocorrência de algumas diferenças de comportamento térmico. Conclui-se com os resultados obtidos que a bentazona formou um complexo com a  $\beta$ -CD.

Da mesma forma, realizaram-se estudos para a caracterização por DSC das misturas físicas com e sem etanol, ambas na presença da bentazona.

Seguidamente, são apresentados os termogramas referentes às diferentes misturas físicas testadas.

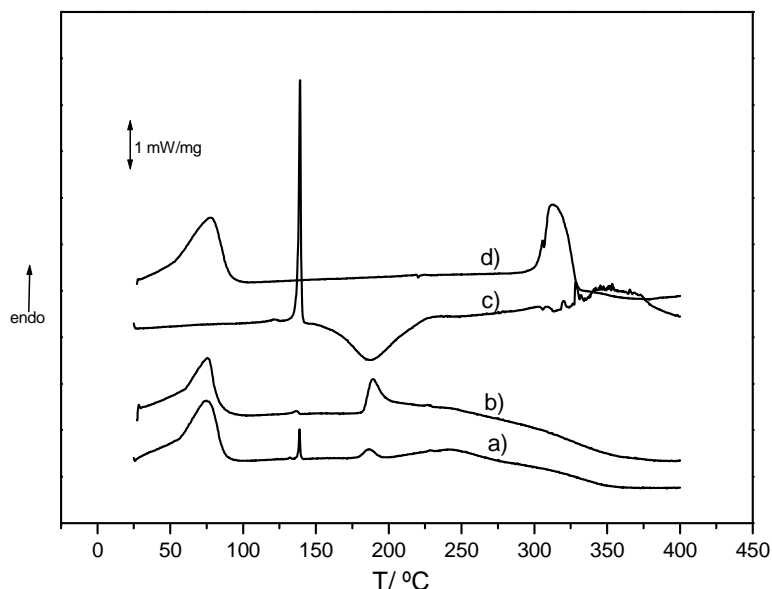


Figura 3.18 - Análise por DSC em atmosfera de azoto das misturas físicas: a) Mistura física sem etanol, b) Mistura com etanol, c) Bentazona e d)  $\beta$ -CD.

A análise térmica da bentazona originou um termograma onde é possível observar um pico endotérmico que ocorre a 139,2°C e um pico exotérmico a 188,1°C que deverá corresponder à degradação da bentazona. O fluxo de calor observado a 139,2°C é característico da fusão do bentazona. A temperatura de fusão descrita na literatura para este composto está entre 137-139 °C. <sup>[50]</sup>

O termograma obtido para a  $\beta$ -CD apresenta igualmente dois fluxos endotérmicos, a 77,7°C e a 311,9°C. O primeiro pico deverá corresponder à desidratação da  $\beta$ -CD enquanto que o segundo poderá representar a degradação desta.

Avaliando os termogramas das misturas físicas com e sem etanol comparativamente aos termogramas da bentazona e  $\beta$ -CD, pode-se observar que na mistura física sem etanol (a) é visível o fluxo endotérmico da  $\beta$ -CD a 75,0°C, assim como é evidente o pico característico da fusão da bentazona a 138,7°C, evidenciando provavelmente o facto de haver ainda bentazona por encapsular. É igualmente possível visualizar, a ocorrência de um pequeno pico endotérmico a 186,6°C. No termograma da mistura com etanol, ocorre o aparecimento do pico da  $\beta$ -CD a 75,4°C e tal como na mistura física sem etanol, verificando-se também o

surgimento de um pico a 189,4°C. Neste termograma não é visível o fluxo endotérmico característico da fusão da bentazona. O pico que surge a 189,4°C é semelhante ao anteriormente verificado para o complexo preparado em solução a 188,1°C. Deste modo é provável que este corresponda à fusão do complexo. Segundo Szejtli, a inclusão de uma molécula hóspede na cavidade da ciclodextrina ou na rede cristalina, leva a que os seus pontos de fusão, de ebulição, de sublimação ou de degradação sejam deslocados para uma temperatura mais elevada ou não se observem até à temperatura limite de decomposição da ciclodextrina (250-300°C).<sup>[51]</sup>

De seguida, são apresentados na figura 3.19, os termogramas quer dos compostos bentazona e  $\beta$ -CD como também do complexo formado em solução etanólica e da mistura física em presença de etanol.

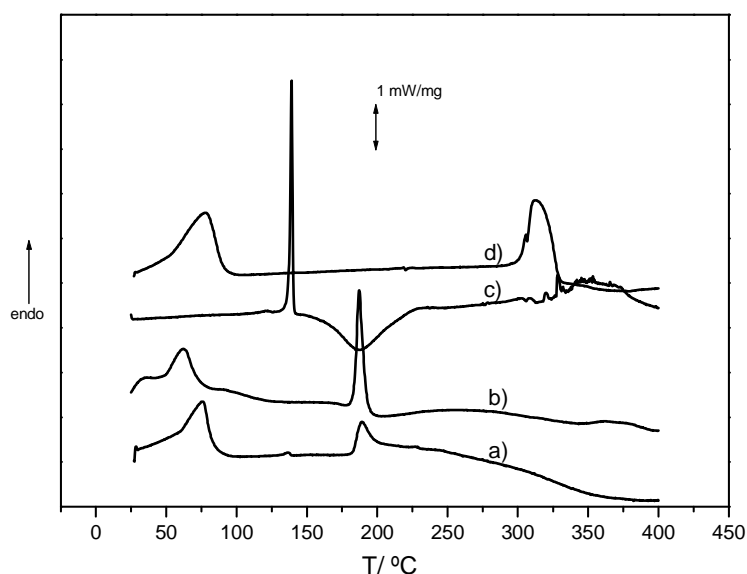


Figura 3.19 – Comparação dos DSC's entre o complexo formado em solução etanólica com o complexo formado na mistura física com 1 Bentazona: 3  $\beta$ -CD: a) Mistura física com etanol, b) complexo formado em solução etanólica, c) Bentazona e d)  $\beta$ -CD.

Da figura é possível constatar que o comportamento térmico do complexo formado em solução etanólica e por mistura física etanólica apresenta é algo semelhante, uma vez que ambos apresentam o fluxo térmico da  $\beta$ -CD para temperaturas relativamente próximas e quer uma quer outra têm evidenciado o deslocamento do pico endotérmico característico da bentazona presente, embora seja mais visível no termograma do complexo formado em solução etanólica. Concluindo, é possível afirmar que a bentazona encapsula muito provavelmente na sua totalidade aquando da presença do etanol na mistura física. Já o mesmo não se verifica na mistura física sem etanol, existindo ainda bentazona livre

presente. No entanto, em qualquer dos casos houve claramente a formação do complexo como se pode verificar pela ocorrência do pico endotérmico a 188 °C.

### 3.2.1.1 Análise por FTIR dos complexos formados

Tal como o MCPA, também se analisou o comportamento da bentazona e seu complexo por FTIR.

De seguida é apresentado o FTIR onde é possível comparar directamente o complexo, formado pela bentazona com a  $\beta$ -CD, com as substâncias originais.

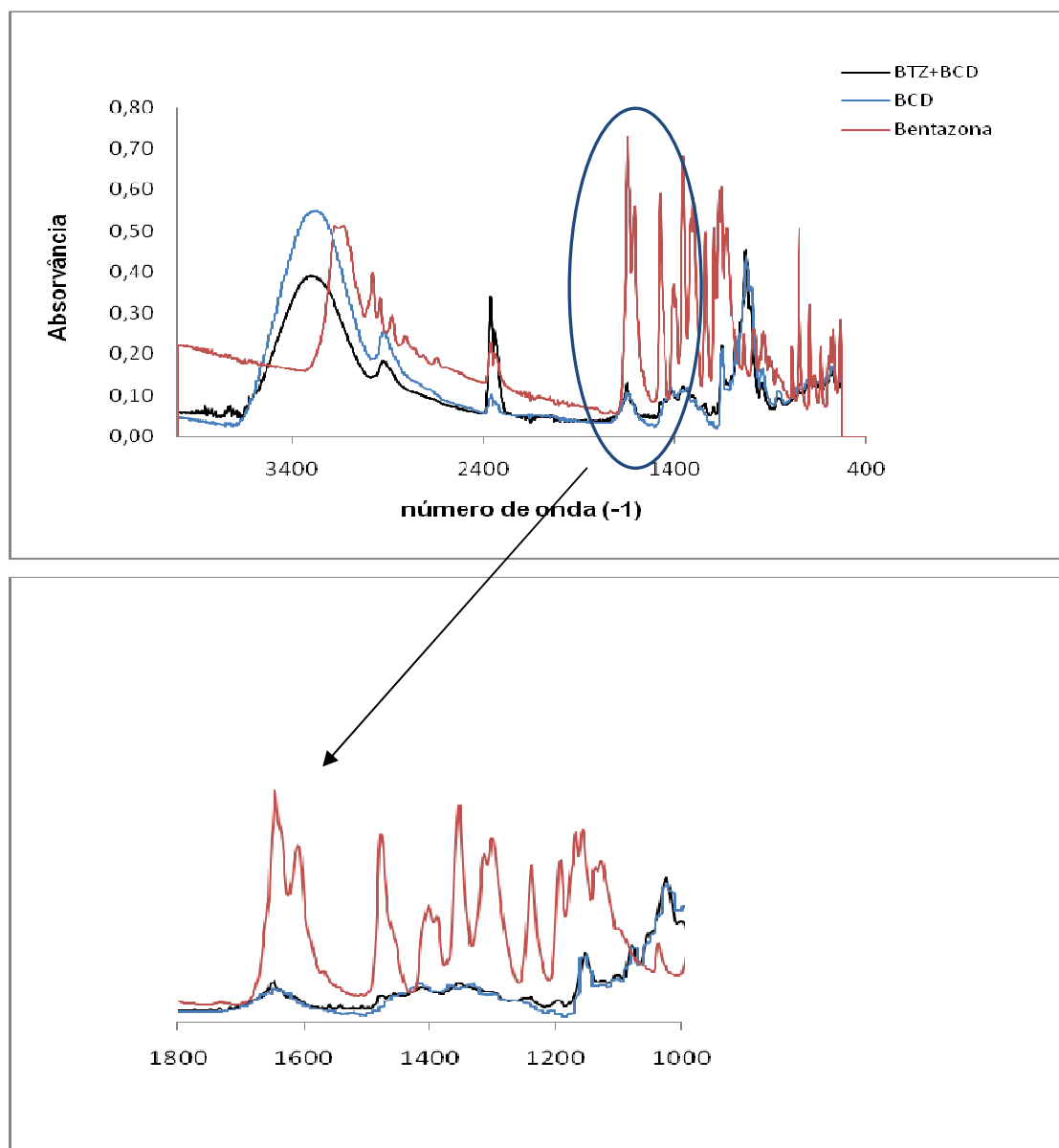


Figura 3.20 – Análise por FTIR e sua expansão da — Bentazona —  $\beta$ -CD  
— Complexo formado em solução etanólica.

Analisando os espectros acima apresentados, é evidente um comportamento distinto entre o espectro do pesticida e o do complexo, no intervalo de número de onda entre 1500 e 1700 $\text{cm}^{-1}$ . O espectro do complexo, não apresenta as duas bandas características da bentazona, a 1643 e a 1605 $\text{cm}^{-1}$ , observando-se apenas uma banda, ligeiramente deslocada relativamente à primeira da bentazona, a 1672 $\text{cm}^{-1}$ . Como é possível observar, a segunda banda da bentazona não aparece no espectro do complexo. Tal facto sugere que a bentazona tenha encapsulado por acção da  $\beta$ -CD.

Realizaram-se os FTIR's das misturas físicas com e sem etanol comparando-as na mesma com os FTIR's da bentazona e  $\beta$ -CD como se pode ver na figura 3.21.

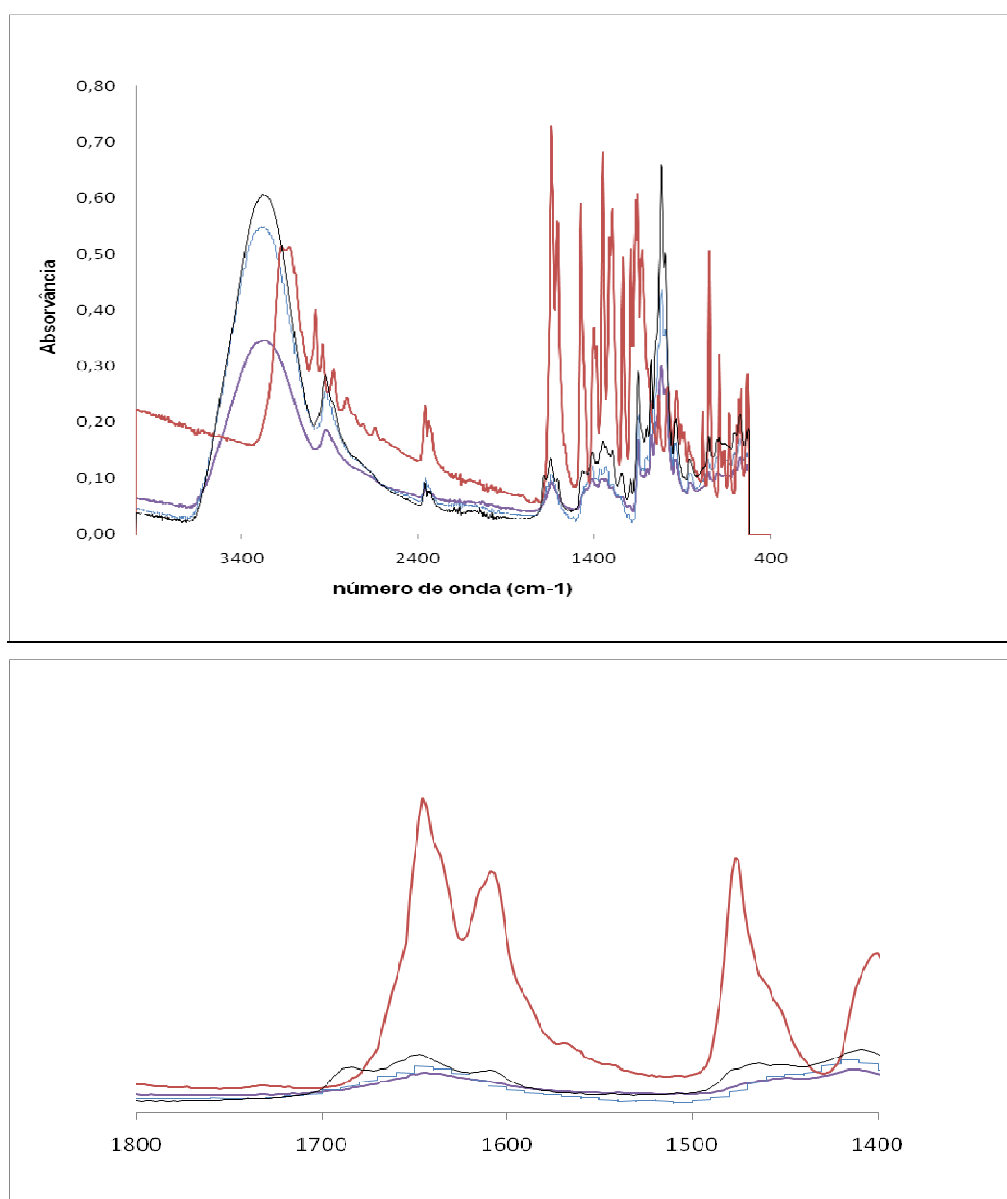


Figura 3.21 – Análise por FTIR e sua expansão da — Bentazona —  $\beta$ -CD — Mistura física com etanol — Mistura física sem etanol.

Analisando o espectro apresentado, constata-se que a mistura física sem etanol tem o mesmo comportamento que a  $\beta$ -CD. Relativamente à mistura em solução com etanol é visível um comportamento distinto entre o espectro da bentazona e a mistura física sem etanol.

## CAPÍTULO 4. CONCLUSÕES

Com vista a reduzir o impacto ambiental dos pesticidas no meio ambiente e aumentar a sua solubilidade e biodisponibilidade efectuou-se o encapsulamento do MCPA e da bentazona, dois dos pesticidas mais usados no nosso País, usando  $\beta$ -Ciclodextrina. A obtenção destes complexos crê-se que dará origem a um aumento da solubilidade e da estabilidade química dos compostos hóspede.

No presente trabalho para além da preparação pretendeu-se igualmente caracterizar os complexos formados abordando também a sua avaliação química em solução aquosa assim como determinar a solubilidade destes complexos. O encapsulamento do MCPA e da bentazona foi efectuado utilizando diferentes técnicas e concentrações distintas de  $\beta$ -CD.

O uso simultâneo de diversas técnicas analíticas para a caracterização dos complexos formados possibilitou a obtenção de conclusões mais completas e significativas.

Prepararam-se misturas, em solução ou em estado sólido, usando diferentes proporções entre o MCPA e a  $\beta$ -CD. O estudo por DSC revelou que somente no caso da mistura MCPA: $\beta$ -CD 1:2 ocorre o encapsulamento total do herbicida. De facto, o termograma desta mistura foi o único em que não foi visível o fluxo de calor correspondente à fusão do herbicida. Para a MCPA, verificou-se a formação do complexo tanto em solução etanólica como na mistura física com etanol na proporção MCPA: $\beta$ -CD 1:2, não se verificando, em ambas, o fluxo de calor correspondente à fusão do herbicida.

Os complexos obtidos por reacção em solução e por mistura física foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho. Este estudo revelou para o MCPA, algumas diferenças entre o espectro do herbicida e do complexo, nomeadamente o deslocamento de uma banda e o desaparecimento de outra do complexo face ao herbicida, podendo deste modo significar que o MCPA tenha sido encapsulado pela  $\beta$ -CD. Isto verificou-se para o complexo formado em solução etanólica assim como para a mistura física de 1:2 de MCPA e  $\beta$ -CD respectivamente. Do estudo da solubilidade do complexo formado em solução aquosa por espectrofotometria de UV concluiu-se que a partir das 19h se atingiu um equilíbrio dinâmico não existindo qualquer variação nem deslocamento dos espectros entre a solução inicial, que não continha  $\beta$ -CD, e as restantes soluções. A constante de estabilidade obtida foi de 102,4. A solubilidade do complexo formado é cerca de 2x superior à solubilidade do MCPA.

Os ensaios efectuados por HPLC não foram conclusivos relativamente à possibilidade de separação dos picos relativos ao MCPA e ao complexo. De facto, tanto o pesticida como o complexo apresentam tempos de retenção muito semelhantes. De igual modo, durante os ensaios electroquímicos, observou-se um comportamento muito semelhante para as duas espécies, MCPA livre e MCPA complexado quer relativamente ao  $E_p$  quer ao  $I_p$  em função do pH.

Prepararam-se misturas, em solução e em estado sólido, entre a bentazona e a  $\beta$ -CD. O estudo por DSC revelou que o herbicida encapsula no complexo formado em solução etanólica assim como na mistura física com etanol, não se verificando em ambas, o fluxo de calor correspondente à fusão da bentazona. Para a mistura física sem etanol, o termograma evidenciou a existência de herbicida livre. Os complexos obtidos por reacção em solução e por mistura física foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho. Com este estudo foi possível observar a existência de algumas diferenças entre o espectro da bentazona e do complexo formado em solução etanólica, nomeadamente o deslocamento de uma banda e o desaparecimento de outra do complexo face ao herbicida, podendo deste modo significar que a bentazona tenha sido encapsulado pela  $\beta$ -CD. As misturas físicas, com e sem etanol, apresentaram comportamentos diferentes.

No seguimento dos estudos efectuados, considera-se que seria apropriado efectuar ensaios que visem a avaliação da estabilidade e toxicidade dos complexos face aos pesticidas *per si*. A conjugação de todos os resultados permitirá inferir do potencial da tecnologia de encapsulamento na melhoria e redução do impacto ambiental de poluentes orgânicos persistentes.



## CAPÍTULO 5. BIBLIOGRAFIA

- [1] Mörner. J., R. Bos & M. Fredrix., *Reducing and Eliminating the use of Persistent Organic Pesticides – Guidance on alternative for sustainable pest and vector management*, Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, Geneva, 2002;
- [2] EPA, *United States Environmental Protection Agency. Persistent Organic Pollutants – A Global Issue*, A Global Response, 2002;
- [3] Basheer, C. et al. (in press), *Application of micro-solid extraction for the determination of persistent organic pollutants in tissue samples*, Journal of Chromatography A.;
- [4] ESB, *Poluentes Orgânicos Persistentes*, Escola Superior de Biotecnologia – Universidade Católica Portuguesa, 2006.
- [5] APA, *Plano Nacional de Implementação da Convenção de Estocolmo*, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, 2010;
- [6] [http://europa.eu/legislation\\_summaries](http://europa.eu/legislation_summaries) (acedido em 27 de Abril de 2010);
- [7] Johnston, A. E., *Soil organic-matter, effects on soils and crops*, Soil use management, p. 97-105, 1986;
- [8] Morrison H. I., Wilkins. K., Semenciw, R., Mao Y., Wigle D., *Herbicides and Cancer*, Journal of the National Cancer Institute, Vol. 84. No 24: p.1866-1874. Dec 16. 1992;
- [9] [http://www.alanwood.net/pesticides/class\\_herbicides.html](http://www.alanwood.net/pesticides/class_herbicides.html) (acedido em 3 de Maio de 2010);
- [10] S. Budaver, *The Merck Index (11th ed.)*, Merck & Co, Inc., 1989;
- [11] W.G. Templeman, W.A. Sexton, *The Differential Effect of Synthetic Plant Growth Substances upon Plant Species. I. Seed Germination and Early Growth Responses to  $\alpha$ -Naphthylacetic Acid and Compounds of General Formula  $aryIOCHCOO$* , Proceedings of the Royal Society of London **133** (872): 300–313, 1946;
- [12] World Health Organization, *Classification of Pesticides by Hazard*, IPCS, 2009;
- [13] Walker, Mary M. and Lawrence H. Keith, *EPA's Pesticide Fact Sheet Database*, Lewis Publishers, Chelsea, MI, 1992;
- [14] [www.chm.bris.ac.uk/.../dow\\_synthesis\\_of\\_mcpa.gif](http://www.chm.bris.ac.uk/.../dow_synthesis_of_mcpa.gif) (acedido em 18 de Maio de 2010);
- [15] <http://www.alanwood.net/pesticides/bentazone.html> (acedido em 5 de Junho de 2010);
- [16] Meister, R.T., *Farm Chemicals Handbook '92*, Meister Publishing Company, Willoughby, Ohio, 1992;
- [17] Occupational Health Services, Inc., *MSDS for Bentazon*, OHS Inc., Secaucus, NJ, 1991;
- [18] Berg, G. L., *Farm chemicals handbook*, Willoughby, OH: Meister Publishing Company, 1986;
- [19] Hartley, D. and H. Kidd, *The agrochemicals handbook*, Nottingham, England: Royal Society of Chemistry, 1983;
- [20] U. S. Environmental Protection Agency. *Chemical fact sheet for bentazon and sodium bentazon*, Fact sheet no. 64. Office of Pesticide Programs, Washington, DC, 1985;
- [21] Worthing, C. R., *The pesticide manual: A world compendium*, Croyden, England: The British Crop Protection Council, 1983;

- [22] Menzie, C. M., *Metabolism of pesticides*, Update III. U. S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Special Scientific Report, Wildlife No. 232. Washington, DC: U. S. Government Printing Office, 1980;
- [23] WSSA Herbicide Handbook Committee., *Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America*, 6th Ed. WSSA, Champaign, IL. 1989;
- [24] U. S. Department of Agriculture, Soil Conservation Service, SCS/ARS/CES *Pesticide Properties Database: Version 2.0 (Summary)*, USDA - Soil Conservation Service, Syracuse, NY, 1990;
- [25] US Environmental Protection Agency, *National Pesticide Survey: Bentazon*, Office of Water, Office of Pesticides and Toxic Substances, US EPA, Washington, DC, 1990;
- [26] \_\_\_\_\_. *Bentazon: Health Advisory*, Office of Drinking Water, US EPA, Washington, DC, 1988;
- [27] Del Valle, E.M.M., *Cyclodextrins and their uses: a review*, Process Biochemistry, Vol. 39, No 9: p. 1033-1046. 2004;
- [28] Aguiar, C. L., *Ciclodextrina Glicosiltransferase*, Produção, Ação e Aplicação, B. CEPPA, Curitiba, vol. 19, No 1: p. 119-138, 2001;
- [29] Banerjee, A., e tal., *Encapsulation of Prodan in beta-cyclodextrin environments: A critical study via electronic spectroscopy and molecular mechanics*, Journal of Molecular Structure, 794(1-3): p. 181-189, 2006;
- [30] Silva, M. R., *Formulação Líquida Oral do Acetato de Hidrocortisona Incluso em Ciclodextrina: Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica*, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2005;
- [31] [www.sbgq.org.br/.../23/resumos/1397/index.html](http://www.sbgq.org.br/.../23/resumos/1397/index.html) (acedido em 20 de Maio de 2010);
- [32] Boogaard, M., *Cyclodextrin-containing Supramolecular Structures, from pseudo-polyrotaxanes towards molecular tubes, insulated molecular wires and topological networks*, University of Groningen, The Netherlands, 2003;
- [33] Larsen, K. L. and Zimmermann, W., *Analysis and characterisation of cyclodextrins and their inclusion complexes by affinity capillary electrophoresis*, Journal of Chromatography A, 836(1): p. 3-14, 1999;
- [34] Mallick, A., B. Haidar, and N. Chattopadhyay, *Encapsulation of norharmane in cyclodextrin: formation of 1:1 and 1:2 inclusion complexes*, Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 78(3): p. 215-221, 2005;
- [35] <http://www3.wooster.edu/chemistry/pbonvallet/research/> (acedido em 23 de Maio de 2010);
- [36] Schneiderman, E. and A. M. Stalcup., *Cyclodextrins: a versatile tool in separation science*, Analytical Separations Symposium, Vaals, Netherlands: Elsevier Science Bv., 2000;
- [37] Biotecnologia, Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Brasil [<http://www.puccamp.br/centros/ccv/Graduacao/Biologia/aulas/BIOTECNOLOGIABIOLOGIA2005.pdf>];
- [38] Schmid G., *Cyclodextrin glucanotransferase production: yield enhancement by overexpression of cloned genes*, Trends Biotechnol 7:244-8, 1989, Apud Del Valle, E.M.M., Cyclodextrins and their uses: a review, Process Biochemistry, 39(9): p. 1033-1046, 2004;
- [39] Higuchi, T., Connors, K.A., *Phase-solubility techniques*, Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, 117-212, 1965;

- [40] Fernandes, C.M. e tal., *Multimodal molecular encapsulation of nicardipine hydrochloride by beta-cyclodextrin, hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and triacetyl-beta-cyclodextrin in solution*, *Structural studies* by H-1 NMR and ROESY experiments, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(5): p. 285-296, 2003;
- [41] Raj, C.R. and R. Ramaraj, *Electrochemical study of the cyclodextrin encapsulation of a macrocyclic nickel complex*, *Electrochimica Acta*, 44(16): p. 2685-2691, 1999;
- [42] Botella, S.M., e tal., *Analytical applications of retinoid.cyclodextrin inclusion complexes 1. Characterization of a retinal-beta-cyclodextrin complex*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 14(8-10): p. 909-915, 1996;
- [43] Doziuk, H., *Properties and Applications of Cyclodextrins: Cyclodextrins and Their Complexes*, Wiley-VCH: Weinheim, 2006;
- [44] What is a pesticide? (US EPA definitions, em [24 de junho](#) de 2006);
- [45] [www.dgadr.pt](http://www.dgadr.pt);
- [46] <http://en.wikipedia.org/wiki/MCPA> (acedido em 30 de Maio de 2010);
- [47] Kidd, H. and James, D. R., Eds, *The Agrochemicals Handbook*, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, 1991;
- [48] Council Directive 67/548/EEC of 27 June 1967 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances;
- [49] Cramer, F., Saenger W., Ch. Spatz H. Inclusion compounds. XIX. *The formation of inclusion compounds of  $\beta$ -cyclodextrin in aqueous solutions*, Thermodynamics and kinetics. *J. Am. Chem. Soc.*, 89 p. 14–20, 1967;
- [50] World Health Organization, *Guidelines for Drinking-water Quality*, 2004;
- [51] Szejtli J. Cyclodextrins. In: *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 1-78, 1988.

